Books

CAB INTERNATIONAL
MYCOLOGICAL INSTITUTE
LIBRARY

IMI \ Books / CAR

IMPERIAL MYCOLOGICAL INSTITUTE
15 NOV 1937

L'IMMUNITÀ NELLE PIANTE

MONOGRAFIE DELL'ISTITUTO SIEROTERAPICO MILANESE

D. CARBONE E C. ARNAUDI

L'IMMUNITÀ NELLE PIANTE

CON PREFAZIONE DI

SERAFINO BELFANTI

এই অসীম নির্ব্বাক উদ্ভিদ জীবন
প্রানী জীবনেরই প্রতিধ্বনী। উভয়ের
জীবন প্রথা একই নিয়মে পরিচালিত।
শ্রীজগদীশ চন্দ্র বসু।

শ্রীজগদীশ চন্দ্র বসু

« La vita animale trova un'eco nella vasta vita inarticolata delle piante. I processi vitali dell'una e dell'altra sono guidati da leggi identiche ».

J. CH. BOSE

MILANO - 1930 - A. VIII

PROPRIETÀ LETTERARIA RISERVATA

Stab. Tipografico Stucchi Ceretti (Soc. An.) - Milano

PREFAZIONE.

La Microbiologia che per opera dello Spallanzani mosse in Italia i primi passi con indirizzo naturalistico, attraverso lo studio delle fermentazioni e delle alterazioni della sostanza organica ad opera dei germi, andò poi via via sviluppandosi enormemente sopratutto nella indagine delle malattie infettive dell'uomo e degli animàli domestici. Naturalmente in questa branca si ebbero più estesi e profondi studi, onde si raccolse una tal somma di fatti e di leggi da permeare tutti gli studi medici e costituire due fondamentali discipline autonome, se pur intimamente legate, quali sono la Batteriologia e la Immunologia.

Indipendentemente e quasi separata un po' dalle consorelle è sorta nell'ultimo cinquantennio un'altra branca della Microbiologia: la Patologia vegetale, la quale ha raccolto le proprie osservazioni ed esperienze secondo un indirizzo suo particolare. La Microbiologia adunque, sorta come scienza unitaria ha subìto nel suo grande sviluppo la stessa sorte di tutte le altre scienze, suddividendosi in specialità con tutti i vantaggi e tutti gli svantaggi caratteristici delle specializzazioni.

Già al I° Congresso dei microbiologi italiani (Perugia 1929), *ho avuto occasione di insistere sui vantaggi che le sintesi ed i ravvicinamenti da un punto di vista biologico possono recare agli studi microbiologici quando si tenti di unificare gli studi, le ricerche, le ipotesi e le leggi che i vari studiosi specialisti ognuno nel proprio campo, fanno oggetto delle proprie ricerche.*

Il lavoro che viene presentato è frutto di questo indirizzo. Indirizzo che da molti segni si può ritenere avrà un seguito. Sarebbe ozioso numerare le interferenze così frequenti negli studi di fisiologia, microbiologia e patologia animale e vegetale messe in evidenza e studiate in questi ultimi anni sopratutto in America. In Francia un'apposita associazione di Patologia comparata disciplina e promuove questa collaborazione. In Inghilterra sono assai frequenti le adunanze e discussioni fra patologi umani e botanici. In Germania la fiorentissima Società dei Naturalisti e Medici tedeschi, che tiene ogni anno importanti congressi dove vengono discussi problemi di comune interesse, dimostra, se ve ne fosse bisogno, le colleganze delle scienze naturali e mediche. I fatti osservati nei due campi di studî non poche volte si illuminano reciprocamente oltre a facilitare lo scambio di metodi di lavoro o di particolari di tecnica. Nei moderni trattati sui Virus filtrabili *vengono esposte unitamente le malattie degli animali e delle piante. Si va dunque abbozzando quella che a giusto titolo potrà veramente chiamarsi la Fisiopatologia generale, scienza che raccoglierà le leggi delle condizioni che determinano gli stati patologici comuni a tutti gli esseri viventi.*

Questa monografia mentre raccoglie un notevole numero di ricerche originali sulla immunità nelle piante, eseguite nell'ultimo decennio nei laboratori dell'Istituto Sieroterapico Milanese, nello stesso tempo vuole essere una messa a punto di quanto si sa e di quello che non si conosce su questo argomento, di per sè stesso tanto suggestivo. Raffrontare e mettere in luce i punti di contatto tra patologia vegetale ed animale con speciali cenni all'immunità negli animali inferiori, che costituisce per le sue caratteristiche quasi un punto di passaggio fra le due patologie, è stato uno degli scopi del lavoro.

Se l'immunologia vegetale possa fin d'ora identificarsi con quella animale non è ancora sufficientemente dimostrato, ma il lavoro mette in evidenza fin dove esse possono paragonarsi, nell'attesa che ulteriori studî dicano quale meccanismo regga l'una e l'altra funzione immunitaria.

L'attuale fervore di attività riferentisi all'agricoltura, ha messo in piena luce l'importanza della Fitopatologia. Questa monografia oltre al contributo sperimentale rappresenta quel tentativo necessario d'inquadramento delle nozioni ora disperse, una critica ed un incitamento a studi che oltre ad avere un interesse scientifico possono preludere ad uno pratico, e costituiscono indubbiamente un indirizzo nuovo nella Patologia Vegetale.

Prof. S. BELFANTI.

Milano, *dall'Istituto Sieroterapico Milanese*
17 Ottobre 1929 - A. VII.

SOMMARIO.

Pag.

INTRODUZIONE (Domenico Carbone) 1
Bibliografia 3

PARTE PRIMA.

Capitolo I. – *L'IMMUNITÀ NEGLI ANIMALI* (Domenico Carbone) . . 7
§ 1. Generalità 7
§ 2. Definizione dell'immunità 8
§ 3. Immunità non specifica e specifica 10
§ 4. Immunità congenita ed acquisita, attiva e passiva 10
§ 5. Immunità generale e locale 12
§ 6. Immunità umorale ed istogena 13
§ 7. Anafilassi, iperrecettività, ipersensibilità 17
§ 8. Natura dell'immunità 18
§ 9. L'immunità negli animali inferiori 19
Opere citate 31

Capitolo II. – *L'IMMUNITÀ CONGENITA NEI VEGETALI* (Carlo Arnaudi) 33
§ 1. Generalità 33
§ 2. Sulla distribuzione delle malattie nelle piante. Specializzazione dei parassiti 36
§ 3. Influenza dell'ambiente sulla resistenza delle piante alle malattie . 41
§ 4. La difesa meccanica 45
§ 5. Azione difensiva di sostanze contenute nei succhi vegetali normali . 48
§ 6. Reazioni istogene ed umorali dei tessuti vegetali parassitati . . . 54
Opere citate 73

PARTE SECONDA.

Capitolo III. – *L'IMMUNITÀ ACQUISITA NEI VEGETALI* (Carlo Arnaudi) 83
§ 1. Generalità 83
§ 2. Resistenza alla superinfezione 85
§ 3. Vaccinazione delle piante 88

Pag.
§ 4. Effetto della vaccinazione 98
§ 5. Meccanismo della vaccinazione 99
§ 6. Tecnica della vaccinazione 102
§ 7. Immunità acquisita passiva 104
§ 8. La batteriofagia 108
§ 9. Anafilassi nei vegetali 111
Opere citate 115

CAPITOLO IV. - *I FATTORI UMORALI DELL'IMMUNITÀ* (DOMENICO CARBONE) 117
§ 1. La circolazione dei succhi nelle piante superiori 117
§ 2. L'assorbimento e la sorte di sostanze somministrate alle piante attraverso le linfe 122
§ 3. I pseudoanticorpi 129
§ 4. Gli anticorpi 168
§ 5. Tecnica 191
Opere citate 209

CAPITOLO V. - *LA FITOIMMUNITÀ NELLA PRATICA* (CARLO ARNAUDI) 213
Opere citate 221

CONCLUSIONE (DOMENICO CARBONE e CARLO ARNAUDI) 225

INDICE ANALITICO DELLA MATERIA 235

INDICE DEGLI AUTORI CITATI 269

INDICE DELLE FIGURE. 273

INTRODUZIONE.

Domenico Carbone

Nel 1904 ero a Pisa, laureando in Medicina: era il tempo in cui lo Schiff-Giorgini colà svolgeva quel suo lavoro sulla tubercolosi dell'olivo, ch'è tra i primi a parlare — a torto od a ragione — di anticorpi nelle malattie delle piante.

A me era allora Maestro — nel migliore e più largo senso della parola — mio zio Tito, che in quell'Università insegnava l'anatomia patologica; e fu proprio Lui che un giorno, parlandomi con affettuosa cura dell'avvenire di lavoro in cui mi sarebbe stato guida e compagno dopo la laurea, mi suggerì di occuparmi delle reazioni immunitarie delle piante.

Pochi mesi dopo, il micrococco melitense, ch'Egli studiava, Lo sottrasse per sempre al nostro affetto ed alla Scienza; e le condizioni pel progettato lavoro vennero così a mancare.

Ma quel Suo consiglio non mi è più uscito di mente; ed appena ho potuto, ho deciso di seguirlo.

L'occasione s'è presentata più che tre lustri dopo, quando, cioè, venuto a far parte della famiglia scientifica dell'Istituto Sieroterapico Milanese, mi sono trovato a poter disporre, da un lato, della completa attrezzatura di questo in materia immunologica, e dall'altro della diretta collaborazione di laureati in Scienze Agrarie, uno dei quali (Vigliano) fu da noi praticante per circa un anno, mentre l'altro (Arnaudi) è tuttora aiuto nella sezione da me diretta.

Di qui una serie di ricerche sperimentali, nelle quali, anche quando vi collaborai attivamente, io ebbi in genere funzioni più direttive che esecutive, e che erano state finora oggetto soltanto di brevi comunicazioni: ricerche precedute ed intramezzate, per mia parte, dalla pubblicazione di riviste sintetico-critiche, indirizzate sopratutto ad inquadrare e coordinare i dati forniti dai lavori nostri ed altrui. Ma, fin dal principio, lo scopo che sopratutto mi ero prefisso era, da un lato di sgombrare il campo dalle più pericolose cause d'errore, e dall'altro di richiamare sul nostro argomento l'attenzione dei fitopatologi: perchè essi contribuissero, con la loro competenza di tanto superiore alla nostra, a chiarire questo tema ancor così ricco di incognite e di oscurità. Ed anche in ciò l'opera nostra non è stata vana, perchè penso che in qualche modo essa abbia contribuito a stimolare le ricerche del KOŘINEK, del CAPPELLETTI, della ZOJA, del SARDIÑA, della BENIGNI.

Desiderando e provocando l'amichevole discussione scientifica, noi siamo venuti finora esponendo le nostre ricerche, successivamente, ai biochimici, ai cultori della patologia umana, ai naturalisti in genere, ai botanici ed infine ad un più vasto pubblico di biologi; e ciò sia con le comunicazioni alle rispettive società, sia con le pubblicazioni su giornali diffusi nell'uno o nell'altro ambiente. Ma soltanto adesso — dopo dieci anni di lavoro — siamo giunti alla decisione di allargare a più vasta cerchia l'esposizione del nostro pensiero.

Pensiero che potrà essere in molte parti manchevole, in qualcuna errato; ma che, essendo frutto di una non sempre facile accolta d'esperienze e d'osservazioni, vogliamo sperare sia considerato con qualche indulgenza dal benevolo lettore.

OPERE CITATE

Pag.

2 – Arnaudi C., *Sull'immunità acquisita nei vegetali* (Atti della Società Italiana di Scienze Naturali, vol. LXIV, 1925).

– Arnaudi C., *Sopra uno pseudo ambocettore emolitico del gelso* (Bollettino dell'Istituto Sieroterapico Milanese, dicembre 1925).

– Arnaudi C., *À propos de quelques expériences sur l'immunité acquise des végétaux* (Bulletin de la Société de Pathologie végétale et de Entomologie agricole de France, vol. XIV, 1927).

– Arnaudi C., *Nuove esperienze sulla vaccinazione delle piante* (Rivista di Patologia Vegetale, anno XVIII, 1928).

– Carbone D., Venturelli G. e Quarella B., *Microbi saprofiti e microbi patogeni*. Note critiche e sperimentali. (Riv. di Biol., VI, fasc. 2 e 3, 1919).

– Carbone D., *Studi sulle reazioni immunitarie delle piante*. – I° - Carbone D., *Introduzione*. – II° - Vigliano I. C., *Sulla presenza nelle piante di sostanze agglutinanti, precipitanti, emolizzanti ed antiemolitiche*. (Bollettino dell'Ist. Sieroter. Milanese, 1922, n. 5).

– Carbone D., *Studi sulle reazioni immunitarie delle piante*. – Carbone D. e França C., *Esperienze col « Drosophyllum Lusitanicum »* (Link). (Atti della Società Lombarda di Scienze Mediche e Biologiche, vol. XII, fasc. 4, 1923).

– Carbone D., *Le reazioni immunitarie delle piante*. Rivista critica. (Biochimica e Terapia Sperimentale, anno X, fasc. 7, 1923).

– Carbone D. e Arnaudi C., *Nuove esperienze sulle reazioni immunitarie delle piante* (Atti della Società Italiana di Scienze Naturali, vol. LXIII, 1924).

– Carbone D., *Risultati degli studi sulle reazioni immunitarie delle piante* (Bullettino della Società Botanica Italiana, marzo-aprile, anno 1925).

– Carbone D. e Arnaudi C., *Ancora sulle reazioni immunitarie delle piante* (Atti della Società Italiana di Scienze Naturali, vol. LXIII, 1925, pag. 351).

– Carbone D., *L'immunità nelle piante* (Rivista di Biologia, vol. VIII, fasc. 1, gennaio-febbraio 1926).

– Carbone D., *Si possono vaccinare le piante?* (Bollettino Chimico-farmaceutico, 1926).

– Carbone D., *Ueber die aktive Immunisierung der Pflanzen* (Centralblatt f. Bakt., Abt. II, Bd. 76).

– Carbone D., *Pri la imuneco de la kreskajhoj* (Senne Revuo, 1925).

– Carbone D., *La imuneco che la kreskajhoj* (Internacia Medicina Revuo, 1926).

PARTE PRIMA

CAPITOLO I.

L'IMMUNITÀ NEGLI ANIMALI.

(*Ricordi immunologici*).

DOMENICO CARBONE

§ 1. – GENERALITÀ.

Tanto larghi ed organici sono stati finora gli studi sulla immunità degli animali rispetto ai microrganismi, ed in genere alle sostanze eterogenee al loro corpo, quanto sono state ristrette e frammentarie le ricerche analoghe nel campo botanico; le quali, di conseguenza, hanno finito a svolgersi sulla falsariga dei primi. Per ciò ho ritenuto opportuno di far precedere alla parte essenziale della nostra monografia un breve riassunto delle moderne nozioni zooimmunitarie affinchè esso valga, sia a rammentare ai lettori non immunologi i fatti e la terminologia immunitarii, sia a permettere, nel corso ulteriore del nostro scritto, quelle comparazioni e coordinamenti tra i fatti dell'immunità degli animali e quelli delle piante, che volta a volta verranno opportuni per mettere in rilievo analogie e differenze fra i due regni, sì da dare più solide basi a questo capitolo della fisiopatologia generale.

Ma, in vista di tale scopo particolare della sua trattazione, questo capitolo, pur essendo quanto è possibile completo ed aggiornato nelle sue linee generali, non dovrà addentrarsi inutilmente in minuzie, nè sperdersi per quelle vie laterali che, pur essendo interessanti per se stesse, non appaiono fruttuose per gli scopi che qui ci proponiamo.

Negli animali si suol distinguere l'immunità *non specifica* dalla *specifica*, la *congenita* dall'*acquisita*, e dividere quest'ultima in *attiva* e *passiva*; tanto l'immunità congenita quanto l'acquisita si distinguono poi in *locale* e *generale*, e, a seconda del loro meccanismo, in *cellulare* (od *istogena*) ed *umorale*.

§ 2. – DEFINIZIONE DELL'IMMUNITÀ.

Se è facile citare tutta una serie di esempi di fatti immunitarî, non è invece agevole dare una definizione univoca dell'immunità. Immune contro una malattia infettiva deve dirsi un animale che tale malattia non contragga, anche se venga a contatto col microrganismo agente della malattia stessa. Ma in tal modo noi veniamo a considerare il solo potere patogeno dell'agente, e non la sua facoltà d'entrare in simbiosi, sia generica, sia più o meno evidentemente parassitaria; chè non sono rari gli esempi in cui gli animali e l'uomo possono albergare non solo nel lume dei visceri più o meno comunicanti con l'esterno (intestino, cistifellea), ma anche nell'interno di organi chiusi (sistema circolatorio) dei microrganismi patogeni e di per sè virulenti, senza risentirne alcun danno apparente. Sono questi i così detti *portatori sani*, dei quali, per gli organi aperti, tra i molti esempi vi è quello degli uomini portatori di vibrioni colerigeni e di bacilli difterici, e pei chiusi quello dei cavalli portanti nel sangue il virus dell'anemia perniciosa anche sette anni dopo la guarigione. Ora questo modo di considerare le cose — che viene ad escludere dal campo dell'immunità tutto ciò che si riferisce alle simbiosi non patogene dei microrganismi con gli esseri viventi superiori — se è utile e pratico nella trattazione dell'immunologia medica, non è senza inconvenienti pei paragoni con l'immunologia vegetale; nella quale, come vedremo, alcuni dei più tipici esempi di reazioni immunitarie sono tratti proprio dal capitolo delle simbiosi ed anzi non di quelle parassitarie, ma delle mutualiste. Sarà opportuno perciò usare il termine di *refrattarietà* per indicare la impossibilità di entrare, comunque, in simbiosi; e serbare quello d'*immunità* per indicare il sottrarsi a che il simbionte divenga patogeno.

È d'altra parte, questo nome di reazioni immunitarie ricorre anche in zoopatologia, non solo a proposito dei mezzi di difesa dell'organismo di fronte ai microbi patogeni, ma anche nei riguardi delle conseguenze dell'inoculazione di materiali non viventi e derivanti da tutt'altro che da germi patogeni: materiali, però, che rappresentano per l'organismo un « ospite non gradito » e per ciò meritevole di essere neutralizzato od eliminato (albumine eterogenee, ecc.).

Vedremo, inoltre, a proposito dell'immunità nelle piante, quanto poco netto sia il limite fra l'immunità propriamente detta — che può intendersi entrata in azione solo dopo che i microrganismi sono penetrati nei tessuti — e quel complesso di difese più esterne, che tale penetrazione impediscono; alle quali, in senso anche più lato, possono aggiungersi particolari circostanze che pongano l'organismo superiore in condizione da non incontrarsi col germe patogeno nei modi e tempi necessari, perchè questo ne giunga neppure ad iniziare l'invasione. Per citare qualche esempio un po' grossolano, ma chiaro, dirò che tanto un topo normale quanto un uomo che abbia avuto da poco la difterite sono immuni contro questa malattia, nel senso che i loro tessuti possono venire posti a contatto con bacilli difterici senza che se ne ammalino (immunità « *sensu strictiori* »); mentre la rarità della difterite nei poppanti viene piuttosto messa in rapporto col fatto, che questa malattia si trasmette per contatti diretti o indiretti dalla bocca (balocchi, mani sudice od altro), contatti che accadono naturalmente più di rado ai lattanti che ai bambini più grandi.

Questo valga per la differenza fra l'immunità e la mancata occasione d'infettarsi. Più delicata è invece l'altra distinzione, fra meccanismi di semplice difesa e reazioni immunitarie propriamente dette. Per ció ora si tende a considerarli tutti insieme, talchè il METALNIKOV ad es. a proposito degli invertebrati pone in un sol capitolo — come manifestazioni dell'istinto di conservazione — e l'apparato a cellule orticanti, e lo scheletro interno a spicule, e il potere di rigenerazione delle parti amputate, ed i fatti usualmente considerati come immunitarî (fagocitosi, vaccinabilità). E se è vero, che vi è in effetto una notevole differenza tra la protezione meccanica esercitata dall'epitelio corneificato della cute o dalle ciglia vibratili di alcune mucose, e quell'altro complesso di fattori che entra in gioco quando queste barriere esterne siano state infrante o comunque sorpassate dai microrganismi, ciò non toglie che questi ultimi mezzi difensivi vengano a sommarsi e ad intrecciarsi coi primi.

§ 3. – IMMUNITÀ NON SPECIFICA E SPECIFICA.

L'immunità è *specifica* se diretta contro una sola specie microbica, o contro una sola sostanza eterogenea; è *non specifica* se è « un aumento della resistenza di un organismo verso tutti i batteri patogeni » (LUSTIG).

§ 4. – IMMUNITÀ CONGENITA ED ACQUISITA, ATTIVA E PASSIVA.

Si ha l'immunità *congenita* quando una specie zoologica è immune contro un determinato microrganismo o sostanza tossica; l'*acquisita* quando un animale di specie non immune diviene immune.

Tanto l'immunità aspecifica come la specifica possono essere congenite od acquisite. Così gli animali aventi una temperatura intorno ai 37° sono congenitamente ed aspecificamente immuni contro tutti quei microrganismi che hanno un *maximum* di temperatura sui 25° C. e reciprocamente gli animali poichilotermi, finchè vivono in ambiente a più bassa temperatura, non possono essere attaccati da germi aventi un *minimum* di temperatura prossimo a 37° C.; e gli schizomiceti patogeni non possono svilupparsi nei liquidi organici a reazione acida (sudore, orina).

E d'altro lato, un aumento generico dell'immunità aspecifica può ottenersi con l'iniezione, nell'animale, di svariate sostanze (albumose, nucleina, acido cinnamico, pilocarpina, ecc.) così come una diminuzione di tale immunità — o, ciò che è lo stesso, un aumento di recettività — può provocarsi con varî mezzi, tra i quali citerò la alimentazione insufficiente per quantità (fame) o per qualità (avitaminosi, sete); la perfrigerazione; la fatica fisica; l'estirpazione di organi importanti; le alterazioni del ricambio materiale; le concomitanti malattie od intossicazioni generali (anemia, suppurazioni ecc.). Il grado di recettività varia anche a seconda di altri fattori insiti nell'animale, i quali vanno dalla specie alla varietà, alla razza ed al singolo individuo.

Meglio studiata che l'immunità aspecifica è peró la specifica, congenita ed acquisita; delle quali chiarirò il concetto riprendendo un esempio che abbiamo citato già. Il topo è congenitamente immune contro la difterite; l'uomo invece, è recettivo (parola che significa l'opposto di immune) pel bacillo difterico, ma quando abbia subìto tale malattia e ne sia guarito, per qualche tempo non può più infettarsene, perchè è divenuto immune contro di essa.

L'immunità acquisita specifica può però insorgere non solo per aver superata la malattia naturale — tipica od attenuata — ma anche per inoculazione artificiale dei microrganismi patogeni sia virulenti, sia attenuati, sia anche opportunamente uccisi, o di estratti variamente preparati dal loro corpo, o di sostanze che hanno da essi diffuso nei loro liquidi di cultura. Ed a ciò devono aggiungersi le reazioni immunitarie specifiche contro altre sostanze estranee di cui diremo meglio in seguito.

È questa, l'immunità acquisita specifica *attiva*; nella quale cioè, l'organismo animale provvede esso stesso ad apprestare quei mezzi che valgono a difenderlo da un nuovo attacco. Il siero del sangue (o per meglio dire il plasma, dal quale per coagulazione si separa il siero) degli animali divenuti immuni a causa della detta immunizzazione attiva, acquista la proprietà di difendere un animale nuovo, al quale questo siero venga iniettato: l'animale che ha ricevuto il siero è dunque immune *passivamente*, in quanto esso non è — mi si passi il paragone grossolano — che un recipiente in seno al quale il siero altrui entra in azione contro lo specifico germe patogeno o sostanza estranea.

Così, riportandoci ancora al caso della difterite: l'uomo che ha superato la malattia è in istato di *immunità attiva*; il cavallo a cui si sono iniettate dosi crescenti di cultura di bacilli difterici — od anche di filtrati amicrobici di questa, che ne contengono il veleno specifico detto tossina difterica — ha anch'esso la *immunità attiva*; l'ammalato di difterite che riceve un'iniezione di siero di detto cavallo e per tal modo guarisce, e così pure l'uomo che non ebbe tale malattia ma che con un'iniezione di detto siero si è posto preventivamente al sicuro contro l'infezione difterica, sono invece in stato di *immunità passiva*.

Il nome della più antica e nota applicazione della immunizzazione attiva — la *vaccinazione* — viene spesso esteso a tutte le altre.

Un tipo speciale di immunità acquisita è poi quello che riguarda la *superinfezione.*

Abbiamo visto come i *portatori* possano albergare a lungo germi virulenti; qualcosa di analogo avviene in individui che non possono dirsi sani perchè subdolamente la malattia fa il suo corso, ma che negli intervalli fra gli attacchi non presentano fatti patologici rilevabili (per esempio, sifilitici nell'intervallo anteriore allo stadio terziario). Ebbene, in questi individui un nuovo apporto di germi specifici può non essere seguito dal loro attecchimento; ciò che è ben visibile appunto nelle malattie a stadî caratteristici, come la sifilide, in cui la detta superinfezione non è seguita dall'apparire di nuove lesioni del tipo degli stadi già sorpassati.

§ 5. – IMMUNITÀ GENERALE E LOCALE.

Si ha l'immunità *generale* quando tutto l'organismo animale — in tutte le sue parti — è immune; la *locale* quando solo una parte — od alcune parti — di esso sono immuni.

Vedremo come una delle obiezioni aprioristiche contro la fitoimmunità consista appunto nel porre in rilievo come nelle piante, per la maggiore indipendenza delle loro parti, non possa pensarsi ad un'immunizzazione di tutto l'organismo. E vedremo quale sia la risposta che i fatti danno a questa obiezione. Ma fin d'ora è opportuno che poniamo in rilievo come, anche negli animali superiori, l'immunità locale venga ad acquistare ogni giorno una maggiore importanza rispetto a quella generale, conosciuta prima e più largamente di questa.

Classico è l'esempio dell'abrina (fitotossina dell'*Abrus praecatorius* o *yequirity*), che, istillata ripetutamente ed a piccole dosi nella congiuntiva di un solo occhio del coniglio, conferisce a questa una solida immunità specifica, mentre l'altro occhio rimane tanto sensibile a tale veleno come quello di un coniglio nuovo. Un altro esempio, di cui prendo la citazione dall'ALTANA, è dato dal comportamento della cornea del coniglio riguardo all'infezione vaccinovaiolosa. « Dopo la guarigione della lesione specifica rimane immune « solo la parte che fu affetta dalla malattia. Le porzioni rimanenti « dell'organo e dell'intero organismo mantengono completa la loro

« recettività. D'altra parte lo stabilirsi di una immunità generale « non protegge la cornea dall'attecchimento di un successivo innesto ».

§ 6. – IMMUNITÀ UMORALE ED ISTOGENA.

Tanto l'immunità congenita quanto l'acquisita sono dovute a meccanismi complessi e probabilmente non tutti noti. Alcuni di questi si considerano come legati all'azione di sostanze specifiche o no, circolanti nei succhi, e in ispecie nel sangue, dal quale, avvenutane la coagulazione, passano nel siero; altri si riferiscono invece ad azioni esplicate direttamente dalle cellule. Le citate sostanze non sono mai state ottenute allo stato puro, e la loro esistenza si inferisce soltanto dalle azioni ch'esse esercitano. Quando esse sono più o meno strettamente specifiche vengono chiamate *anticorpi*; ed *antigeni* sono quei materiali (microrganismi, altre cellule, sostanze proteiche o lipoidee), verso le quali esse esercitano specificamente la loro azione. Tali termini hanno però valore sopratutto per ciò che riguarda l'immunità acquisita.

I fattori umorali noti per l'immunità congenita sono: le *opsonine*, che rendono i microrganismi più adatti a subire la fagocitosi (v. sotto); il così detto *complemento*, di cui ora diremo; e tutta una serie di anticorpi d'azione analoga a quella degli anticorpi generantisi nell'immunità acquisita, e che possono trovarsi — per solito, in piccola quantità — anche nell'animale nuovo.

Nell'immunità acquisita, per la stimolazione esercitata dagli antigeni, si generano *ex-novo* anticorpi specifici o si ha un notevole aumento quantitativo di quelli spontanei. Tali anticorpi sono: le *agglutinine* e le *citolisine* e *citotossine*, che agiscono sugli antigeni cellulari (microrganismi, globuli rossi, altre cellule di metazoi), le prime flocculandoli, le altre dissolvendoli o almeno uccidendoli; e le *precipitine*, le *antitossine*, gli *antienzimi*, la cui azione contro sostanze antigene disciolte (o meglio, pseudodisciolte) si rivela per le prime con la formazione di un precipitato, per le altre con l'impedirne l'azione (tossica per le tossine, specificamente catalitica per gli enzimi). Anche gli anticorpi possono, alla lor volta, agire da antigeni, provocando così la formazione di anti-anticorpi (antiemolisine, ecc.).

Un gruppo di anticorpi ha una speciale costituzione, della quale si approfitta per ricercare l'esistenza di essi o dei loro antigeni a mezzo della cosidetta *deviazione del complemento*. Ecco, in breve, le basi di questo metodo di ricerca. I citati anticorpi, se riscaldati per un certo tempo a 56° C. perdono ogni azione sull'antigeno; ma la riacquistano quando, all'anticorpo così *inattivato*, si aggiunga siero fresco, anche se di animale non immune. Si ammette perciò, in tal caso, che l'anticorpo sia formato da due sostanze: una termostabile e specifica, detta — a seconda delle scuole — *ambocettore* o *sensibilizzatrice*; l'altra termolabile e non specifica, chiamata *complemento* od *alessina*.

Ora: quando noi facciamo un miscuglio di ambocettore, del *suo* antigeno, e di complemento, l'ambocettore si fissa all'antigeno, ed il complemento si fissa a questo complesso delle due dette sostanze; sicchè, se in seguito si aggiunge al miscuglio un altro ambocettore col *proprio* antigeno, non essendovi più complemento disponibile, questo secondo antigeno rimane indenne. Se, invece, si mescola del complemento con un ambocettore e il tutto con un antigeno che non sia quello specifico pel detto ambocettore, allora l'ambocettore non si fissa all'antigeno, e neppure il complemento si fissa al miscuglio dei due, sicchè, aggiungendo ora un altro ambocettore col *proprio* antigeno, il complemento, che era rimasto libero, può entrare in gioco.

E poichè l'entrata in azione dell'anticorpo è facilmente rilevabile quando si tratti di una citolisina, si suole usare come complesso destinato a rivelare se il complemento sia stato o no fissato, un ambocettore emolitico insieme col proprio antigeno, e cioè coi globuli rossi pei quali esso è specifico. E si sono scelte, come antigeno cellulare, le emazie, perchè la loro dissoluzione è palesata dalla diffusione dell'emoglobina nel mezzo in cui esse sono sospese (emolisi), che è facile a vedersi. Anche di queste nozioni ci si può valere negli studi sull'eventuale presenza d'anticorpi nei succhi delle piante.

Ma gli anticorpi non sono il solo fattore dell'immunità; poichè ad essa concorrono anche fattori più o meno interamente inseparabili dalla diretta attività delle cellule vive, i quali nel loro complesso costituiscono l'*immunità cellulare* od *istogena*. Nella realtà questa si intreccia però in vario modo con l'umorale, sicchè per ogni caso si tratta piuttosto di predominio, che di monopolio dell'una o dell'altra.

L'immunità istogena può essere legata ad un'insensibilità, spontanea od acquisita, delle cellule rispetto all'agente patogeno o tossico, che può quindi venire a contatto con esse senza attaccarle e senza esserne distrutto; ma può anche essere dovuta ad una reazione delle cellule, specie contro i microrganismi.

A queste reazioni concorrono sia particolari cellule mobili, facenti parte del sangue e della linfa (leucociti), sia cellule fisse, che entrano in azione quando il materiale estraneo sia giunto al loro contatto, o circolando a sua volta nel sangue, od in altra maniera.

Ma prima di studiare più particolarmente il modo d'intervento di queste cellule del metazoo, dobbiamo tener presente come vi siano casi intermedi; nei quali, cioè, l'azione difensiva ha luogo anche fuori delle cellule, ma solo nella immediata vicinanza di queste. Così in larve di lepidotteri inoculate con microrganismi per esse patogeni può talora vedersi una batteriolisi molto più intensa vicino o a contatto coi leucociti che altrove (PAILLOT, CANTACUZÈNE, METALNIKOV), v. fig. 1.

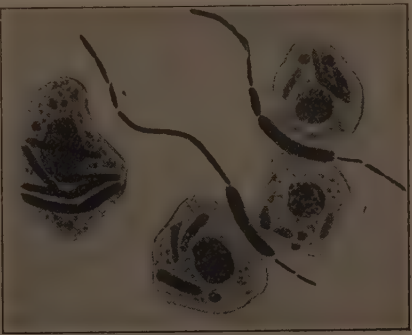


Fig. 1 – Fagocitosi del bacillo del carbonchio da parte di *Galleria mellonella*. Rigonfiamento dei bacilli entro e presso ai fagociti (da METALNIKOV).

Ma gli anticorpi possono essere anche più strettamente legati alle cellule che li producono, sì da meritare il nome di *anticorpi sessili*. Così, negli individui vaccinati con *virus* vaccinico le sostanze immunizzanti in circolo sono sempre scarse. Ma il CASAGRANDI (citato da SCARPELLINI), operando con autolizzati opportunamente preparati di cute in piena efflorescenza vaccinica, e nei quali non era più contenuto il virus, è riuscito, mediante l'innesto dello stesso autolizzato sulla cute dei conigli, a determinare in questi animali un'immunità parziale; e lo SCARPELLINI, avendo trapiantato lembi di cute ripetutamente vaccinata, ma già divenuta esente da *virus*, sull'addome di cani *nuovi*, ha osservato come la rimanente cute dell'addome di questi ultimi avesse acquistato, verso l'inoculazione del detto *virus*, un'immunità non assoluta, ma di poco inferiore a quella di cani direttamente vaccinati.

Inoltre possono circolare nel sangue sostanze la cui azione immunogena consiste soltanto nello stimolare l'attività dei fagociti (*stimoline*).

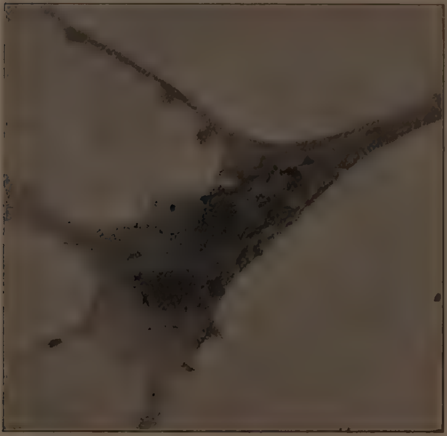


Fig. 2 – Cellula sarcomatosa coltivata *in vitro*, fagocitante bacilli della tubercolosi (da fotografia originale di A. FISCHER).

Questo nome di *fagociti* si dà appunto alle cellule che inglobano nel loro interno sia i microrganismi, sia, in genere, i materiali estranei sospesi nel torrente sanguigno; e che poi digeriscono e svelenano, nel proprio interno, il materiale inglobato.

Un più lungo discorso sull'argomento ci porterebbe fuori dai limiti di questo capitolo; ma dobbiamo rammentare come, nei metazoi, la funzione fagocitaria sia compito, non solo di cellule mobili del sangue (leucociti), ma anche di cellule normalmente fisse (e mobilizzabili o no) come gli endotelii dei vasi, le cellule del KUPFER del fegato, le cellule delle ghiandole linfatiche, della polpa splenica, e del midollo delle ossa (vedi tav. III). È inoltre interessante notare che « in seno ai focolai irritativi, quando le cellule riprendono i caratteri giovanili, l'attività fagocitaria diventa proprietà comune di tutti gli elementi. Nelle culture *in vitro* dei tessuti le cellule di ogni specie: rene, muscolo, sistema nervoso, carcinoma, ecc., entrate in moltiplicazione e ripreso il tipo embrionale, mostrano tutte il fatto comune del ritorno a masse ameboidi dotate di movimento migratorio vivacissimo, che inglobano con ogni avidità le particelle ed i detriti che incontrano (fig. 2). La vita elementare di ogni cellula è vita leucocitaria » (CENTANNI).

Talora i fagociti, dopo di avere inglobato il materiale, si riuniscono in determinati punti, od anche si fondono (cellule giganti, a molti nuclei). Ma di questo, e di alcune altre particolarità della fagocitosi, diremo meglio nei paragrafi seguenti.

Una forma importante dell'attività immunitaria delle cellule è la cosidetta « immunità di barriera », per la quale sia i tegumenti esterni, sia l'interno dei vasi sanguigni e delle sierose, impediscono non di rado ai germi di penetrare al di là dello strato da loro protetto: anche i leucociti possono considerarsi, in certo senso, come una specie di barriera mobile, che impedisce ai materiali fagocitati di giungere a contatto con le altre cellule dell'organismo.

Il fattore istogeno entra in gioco non solo nell'immunità congenita, ma anche nell'acquisita. Così, negli animali vaccinati, la fagocitosi si fa più pronta ed intensa; mentre d'altro lato può insorgere una maggior resistenza dei tessuti contro i veleni antigeni, com'è dimostrato dal fatto che frammenti di cuore di coniglio vaccinato contro il batterio tifico, conservati fuori dell'organismo in liquido di LOCKE-RINGER, se posti a contatto coi veleni fabbricati dal detto batterio, conservano i loro battiti molto più a lungo che i frammenti di cuore di coniglio non vaccinato (NUKADA e MATSUKAKI).

§ 7. – ANAFILASSI, IPERRECETTIVITÀ, IPERSENSIBILITÀ.

Se ad una cavia od altro animale adatto si inietta un materiale proteico, e dopo un certo numero di giorni si ripete l'iniezione anche con una dose debolissima del detto materiale, l'animale presenta un complesso caratteristico di sintomi morbosi a carico del sistema circolatorio e dei muscoli lisci in genere (tubo gastro-enterico, albero respiratorio) e del sangue (ipercoagulabilità, leucopenia, ecc.) nonchè del sistema nervoso. Questo complesso sintomatico è detto *ictus* o *shock anafilattico*; la prima iniezione si chiama *preparante* o *sensibilizzante*; la seconda iniezione *tossica* od *anafilattizzante* o *rivelatrice* (*déchainante* dei francesi).

Lo *shock* anafilattico è specifico, e può essere più o meno grave od anche mortale; gli animali sopravvissuti ad uno *shock*, anche leggero, sono per qualche tempo indifferenti ad una nuova *iniezione rivelatrice*, e cioè si trovano in istato di *antianafilassi* o *deanafilassi*.

Nel fenomeno anafilattico entrano fattori umorali, come lo dimostra, fra l'altro, il fatto che iniettando siero di animale che abbia subito l'*iniezione preparante* ad un animale nuovo, e poi facendo in quest'ultimo l'*iniezione rivelatrice*, esso presenta lo *shock* anafilattico (*anafilassi passiva*). Ma vi entrano pure fattori istogeni: difatti organi isolati di animali che abbiano avuto l'*iniezione preparante* reagiscono in modo caratteristico quando vengono bagnati con l'antigeno.

Però l'intimo meccanismo dell'anafilassi non è ancora sicuro. La previa iniezione ripetuta e frequente di piccole dosi di microrganismi patogeni, morti o vivi, può far sì che l'invasione dell'organismo animale — o in altri termini, la moltiplicazione dei microrganismi *in vivo* — sia affrettata e rafforzata (*iperrecettività*); e così pure la ripetuta iniezione di piccole dosi di antigeni tossici può intensificarne l'azione tossica (*ipersensibilità*). I due fatti possono decorrere parallelamente od anche interferire; l'iperrecettività può essere indotta con l'iniezione di siero di animale iperrecettivo (*iperrecettività passiva*). L'ipersensibilità può essere più o meno localizzata a singoli organi, o generalizzata (Zironi).

§ 8. – NATURA DELL'IMMUNITÀ.

Siamo fin qui venuti rapidamente enumerando i fattori che entrano in gioco nel produrre il fatto dell'*immunità*, cioè della sottrazione dell'organismo animale all'azione dannosa di microrganismi e sostanze estranee. Di essi, i fattori istogeni sono stati i primi studiati; poi hanno avuto gran voga i fattori umorali; ma ora si ritorna a dare maggiore importanza ai primi, giungendosi da alcuni a considerare la produzione di anticorpi più come un fenomeno collaterale, che come un effettivo fattore dell'immunità.

Ma anche pei fattori umorali, bisogna tener presente che essi pure hanno origine dall'attività delle cellule e che, se nell'animale vivo la diffusione degli anticorpi è innegabilmente deputata alla circolazione degli umori, la produzione di essi è invece indipendente da questa, potendosi osservare anche nei frammenti di tessuti animali coltivati *in vitro.*

E vedremo nei capitoli seguenti, come i pochi concetti qui formulati valgano a toglier di mezzo le principali obiezioni che erano state poste a *priori* contro la possibilità di reazioni immunitarie analoghe nelle piante.

Quanto ad una visione d'insieme della natura del fatto immunitario, attualmente si ammettono due principali meccanismi di immunità: uno da *insensibilità*, nella quale per vario meccanismo l'organismo o il tessuto non danno appiglio, per cosí dire, all'agente dannoso, il quale risulta cosí innocuo per essi; l'altro, invece, da *ipersensibilità*, per la quale l'organismo reagisce esageratamente al minimo contatto con l'agente dannoso, e così fin dall'inizio lo imbriglia e lo elimina, impedendogli di proseguire la sua opera deleteria.

Quest'ultima forma di immunità viene a congiungere i fenomeni, apparentemente opposti, dell' immunità e dell' anafilassi, ipercettività, ed ipersensibilità; e a spiegare come possa sorgere tanto l'uno quanto l'altro dei due tipi di reazione come conseguenza di una previa inoculazione d'antigeno. L'identità fondamentale dei due gruppi di reazioni è confermata, del resto, dal fatto che a volte il dimostrarsi dell'uno piuttosto che dell'altro, dipende soltanto dalla dose d'antigeno somministrata (ZIRONI, METALNIKOV).

§ 9. – L'IMMUNITÀ NEGLI ANIMALI INFERIORI.

Gli animali inferiori — invertebrati e protozoi — per la loro struttura più semplice, per la composizione dei loro umori diversa per molti lati da quella dei vertebrati, e per la maggiore autonomia degli organi, appaiono meno lontani dalle piante che non i vertebrati; perciò ho ritenuto opportuno di raccogliere in un paragrafo a parte le poche nozioni finora acquisite sulle loro reazioni immunitarie. E nella compilazione di questo mi sono valso assai largamente delle ottime monografie del CANTACUZÈNE e del METALNIKOV.

Gli infusori si nutrono abitualmente di microrganismi, che essi inglobano nei vacuoli digestivi da loro formati, e digeriscono in questi, espellendone poi all'esterno i residui insieme al vacuolo in cui sono rimasti (v. fig. 3). Analogo decorso ha la digestione di sostanze nutritive (albumina, torlo d'uovo); mentre le sostanze nocive (come: particelle di zolfo, di vetro, di alluminio) sono espulse assai più rapidamente. Il Metalnikov descrive interessanti fenomeni di *memoria* negli infusori, nei quali una sostanza nociva è ingerita — nel modo ora descritto — in minor quantità alla sua seconda somministrazione che alla prima, e cosí via, per somministrazioni ulteriori; la memoria si perde nei nuovi individui, generatisi dai precedenti per scissione, ma solo in parte, nel senso che la quantità di sostanza nociva ch'essi ingeriscono è minore di quella che aveva assunto la cellula madre alla sua prima somministrazione; la completa sparizione di questa memoria si ottiene soltanto dopo parecchie generazioni. Questo complesso di fenomeni richiama alla mente i fatti dell'immunità acquisita attiva.

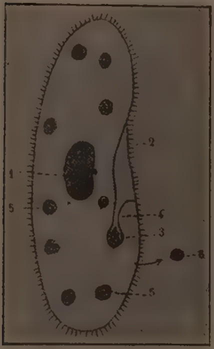


Fig. 3 – Digestione in un protozoo (*Paramaecium*). 1, Nucleo; 2, bocca; 3, formazione del vacuolo; 4, faringe; 5, vacuolo digestivo; 6, vacuolo digestivo espulso (da Metalnikov).

Inoltre, i protozoi — come gli altri microrganismi — sono dotati di larghe possibilità di abituamento ai veleni (razze di tripanosomi resistenti all' *atoxyl*, infusorî divenuti resistenti agli immunsieri specifici, ecc.): abituamento che, sebbene non porti usualmente il nome di immunità, è perciò ormai considerato (anche negli esseri superiori, in cui si chiama *mitridatismo*) come assai analogo ad essa anche nei suoi meccanismi.

Il fatto di nutrirsi spesso di microrganismi è causa della notevole resistenza dei protozoi agli attacchi di questi: però non mancano « malattie infettive » dei protozoi. Così si sono descritti protozoi e funghi che vivono parassiticamente nell'interno di altri protozoi: alcuni rimangono innocui e sono anzi digeriti, se non raggiungono il nucleo del protozoo ospitante, ma quando penetrano in esso si moltiplicano, provocando una « malattia » mortale. Generalmente, più intensa è, in un protozoo, la ordinaria digestione intracellulare delle sostanze nutritive, e più forte è la difesa contro i germi ad esso patogeni.

Nei protozoi si osservano anche fatti rapportabili all'immunità acquisita specifica. Il MOUTON (citato da CANTACUZÈNE) ha constatato, infatti, che amebe coltivate su agar in simbiosi con *Bacterium coli* inducevano in quest'ultimo la tendenza a formare ammassi agglutinati a contatto immediato con l'ameba presso il suo vacuolo contrattile: mentre tale proprietà agglutinante pel *coli* mancava interamente nelle amebe alimentate con stafilococchi e con blastomiceti.

Nelle spugne e nei celenterati è particolarmente attiva la fagocitosi, che è proprietà non soltanto delle cellule mesodermiche, ma anche di quelle endodermiche della cavità intestinale.

Nei vermi superiori, ed in tutti gli altri invertebrati, già si distinguono fenomeni immunitarî umorali ed istogeni, ed anche di quelli che fanno passaggio fra gli uni e gli altri, svolgendosi fuori dalle cellule, ma solo ad immediato contatto con queste. Tra i fattori umorali si hanno sostanze agglutinanti o litiche tanto dei germi come delle emazie e sia naturali, sia da inoculazione degli antigeni. Pare che negli umori degli invertebrati non esista il *complemento* od *alessina* che abbiamo visto essere un componente normale del sangue — e di altri umori — dei vertebrati. Negli invertebrati le reazioni umorali sono spesso irregolari e di scarsa specificità: secondo PAILLOT, esse hanno meccanismi d'azione diversi da quelli noti pei vertebrati.

METALNIKOV e RAPKINE hanno studiato l'immunità nello embrione di un riccio di mare di 15-16 ore di sviluppo (blastula), nella cui cavità essi inoculavano del *Bacterium tumefaciens* con l'apparecchio di microiniezione del CHAMBERS. Un'ora dopo l'iniezione, si distaccano dall'ectoderma delle cellule mesenchimatose, che non fagocitano; i microbi sono però in tal momento già agglutinati: tre o quattro ore dopo si inizia la trasformazione della blastula in gastrula, ed allora si distaccano dall'estremità del futuro intestino e verso la cavità interna, altre cellule mesenchimatose — d'origine endodermica — le quali ben presto fagocitano i batterî (v. fig. 4). Se, invece del *tumefaciens*, si inoculano vibrioni del colera, lo sviluppo dell'embrione è impedito, e questo muore prima che abbiano potuto formarsi le cellule fagocitanti.

In alcuni vermi (*Ascaris megalocephala*) la fagocitosi è interamente affidata a quattro grosse cellule fisse munite di una specie di tentacoli, portanti alla loro volta delle espansioni globulari: tutta la fagocitosi si compie unicamente in queste espansioni (fig. 5). Negli invertebrati è notevolmente diffusa, del resto, la fagocitosi per parte di cellule fisse (Cantacuzène, Paillot).

In parecchi vermi marini — ed in ispecie in *Sipunculus nudus* — la fagocitosi prende un aspetto speciale, essendo affidata a particolari organi natanti nel sangue — le cosidette *urne* — la funzione di *captare* i microrganismi e le altre sostanze estranee che siano giunte nel sangue, mentre la vera fagocitosi — con digestione — è operata da leucociti, che si ammassano intorno alle urne cariche di elementi captati e distruggono le une e gli altri (fig. 6). I *Sipunculus* si possono vaccinare contro diversi microrganismi: nei vermi così immunizzati si trova un numero di urne ch'è da cinque a sette volte maggiore del normale e queste urne inglobano, ed i leucociti distrug-

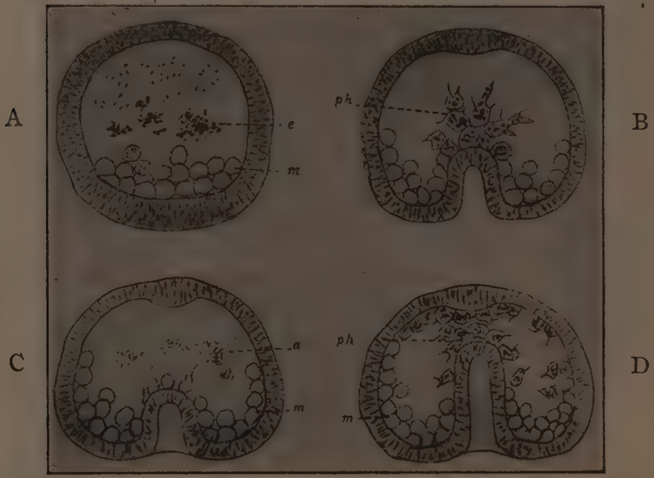


Fig. 4 – Reazioni immunitarie in embrione di riccio di mare. *A* e *B*, Iniezione d'inchiostro di China; *C* e *D*, iniezione di *B. tumefaciens*; *A* e *C*, un'ora dopo l'iniezione; *B* e *D*, tre o quattro ore dopo l'iniezione; *m*, cellule mesenchimatose; *ph*, fagociti; *a*, microbi agglutinati; *e*, inchiostro di China (da Metalnikov).

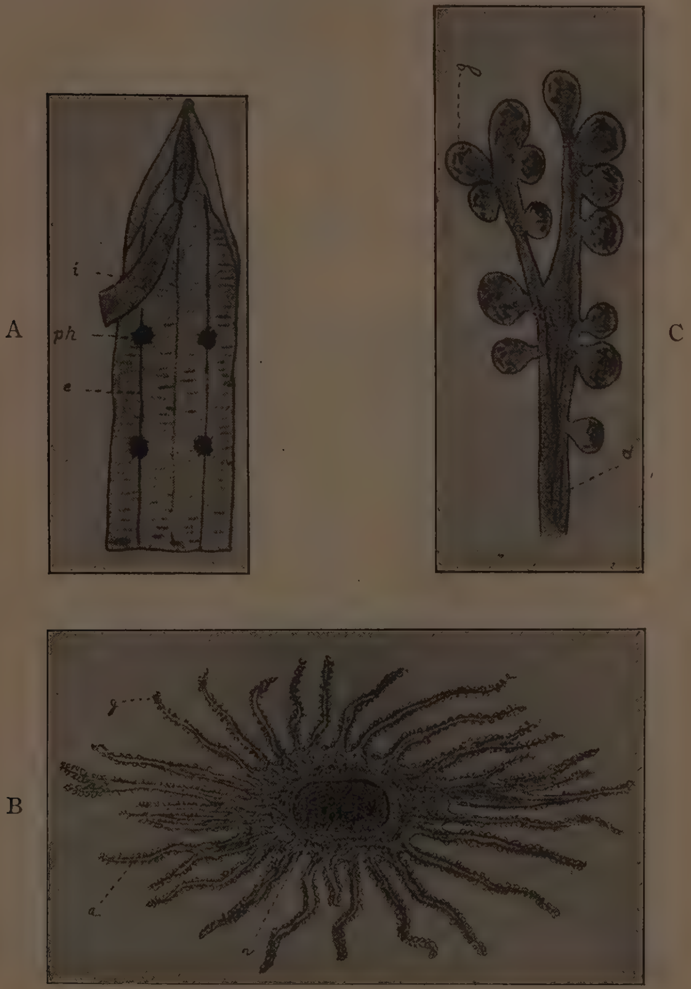


Fig. 5 – Fagocitosi in *Ascaris megalocephala*. *A*, Estremità anteriore di *A. m.* ventiquattr'ore dopo l'iniezione di carmino (*i*, intestino; *e*, linea laterale; *ph*, cellula fagocitaria). *B*, Sezione trasversale della cellula fagocitaria (*n*, nucleo; *a*, appendici; *g*, globuli terminali). *C*, Appendice della cellula fagocitaria sei ore dopo l'iniezione di microrganismi (*a*, appendice; *g*, globulo terminale) (da Metalnikov).

gono, i microrganismi assai più velocemente che nell'animale normale: i leucociti, inoltre, si fondono a formare delle *cellule giganti*. In altre parole, si ha qui un esempio di immunità da ipersensibilità. Tali urne immunizzate segregano batteriolisine: e queste, insieme ad agglutinine, si trovano anche nel sangue.

Nel sangue dello scorpione vi è una sostanza antitossica, che neutralizza il veleno di scorpione; e poichè quest'ultimo prende origine dall'azione di una lecitinasi, possiamo parlare in questo caso di un antifermento. Analoghi antifermenti esistono in altri invertebrati. In alcuni tunicati e crostacei, vi sono emoagglutinine e batterioagglutinine naturali: in ascidie (*Phallusia mamillata*, *Ascidia mentula*) dopo ripetute iniezioni di *Bacterium coli* compaiono agglutinine che non diffondono però nel siero, ma agiscono solo ad immediato contatto con certe cellule del sangue, ed in pari tempo vi è un'energica fagocitosi. Dobbiamo notare che il sangue di *Ascidia mentula* ha reazione acida. Cade così una delle obiezioni aprioristiche contro la possibilità di reazioni immunitarie nelle piante: l'obiezione, cioè, che i succhi vegetali sono acidi mentre quelli animali sono alcalini.

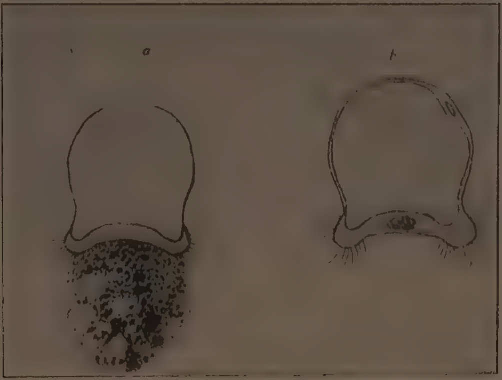


Fig. 6 – Urne di *Sipunculus nudus*. *a*, Urna di *Sipunculus* iniettato con inchiostro di China; *b*, sezione longitudinale di un'urna (da Metalnikov).

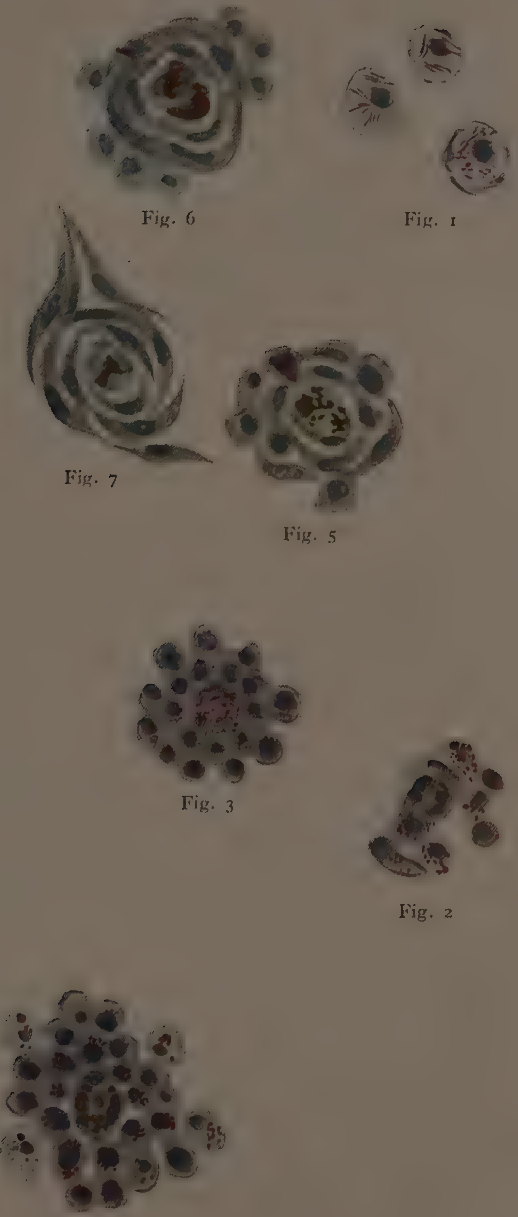


Fig. 6

Fig. 1

Fig. 7

Fig. 5

Fig. 3

Fig. 2

Fig. 4

Stadî successivi (da 1 a 7) della formazione del tubercolo in *Galleria mellonella*. (Da Redaelli, *Boll. Ist. Sier. Milanese,* vol. VIII, pag. 33). Vedi pag. 26.

Degli insetti, il più studiato dal lato immunitario è la *Galleria mellonella*, o tignola degli alveari, che si nutre di cera; ma non mancano osservazioni su altri insetti.

La *Galleria mellonella* presenta una notevole immunità naturale — assai più forte nella larva, minore nella farfalla, minore ancora per la crisalide — verso parecchi microrganismi (alcuni dei quali fortemente patogeni per l'uomo) e verso tutte le esotossine sperimentate meno il veleno di cobra e la tossina difterica; mentre è molto sensibile alle endotossine e ad alcune altre sostanze (bile, sangue di *Galleria* ossidatosi all'aria).

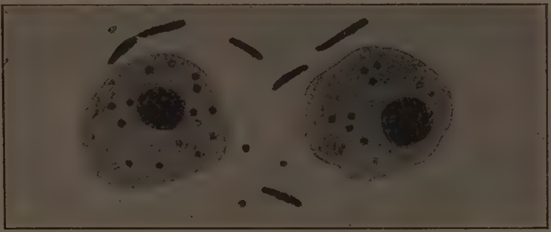


Fig. 7 – Fagocitosi elettiva in *Galleria mellonella* inoculata con *Bacterium galleriae* n. 2 e con *Micrococcus galleriae* (da Metalnikov).

In questa immunità congenita, qualche volta si è dimostrata batteriolisi extracellulare *in vivo*, così come l'ha osservata Paillot in bruchi di nottue; ma, salvo tali batteriolisine, non si è rilevata l'esistenza d'altri anticorpi. Vivace ed intensa è invece la fagocitosi, affidata a cellule mobili dell'emolinfa: essa presenta particolarità diverse a seconda della specie microbica infettante, ed è stata accuratamente studiata dal Metalnikov in molti dettagli per se stessi assai importanti, ma che qui si trascurano, per non avere finora evidenti legami col tema della nostra monografia. Non tutti i microrganismi sono fagocitati, sicchè iniettando al bruco un miscuglio di una specie fagocitabile e di una d'opposta natura (p. es. *Bacterium galleriae* N° 2 e *Micrococcus galleriae*) una sola di esse viene fagocitata, come se il fagocita fosse dotato di quella « facoltà di scelta del nutrimento » che si nota nei protozoi (v. pag. 20 - e fig. 7).

La digestione intracellulare (od anche extracellulare, ma verificantesi solo a immediato contatto con le cellule) dei microrganismi captati dai fagociti o giunti con questi in contatto conduce i germi talora ad una frammentazione in granuli, tal altra ad un rigonfiamento, l'una e l'altro seguiti poi dalla dissoluzione: durante questa, non di rado il materiale microbico si muta in un pigmento scuro. La digestione fagocitaria avviene in un mezzo prima acido, poi alcalino. Spesso i fagociti contenenti i germi in via di dissolvimento si ammassano in determinati organi: come in parecchi altri invertebrati dei fagociti carichi di determinati germi (tubercolosi) si fondono in ammassi, costituendo così delle *cellule giganti polinucleate* che a poco a poco degenerano e vengono attorniate da altri leucociti (fig. 8). Questi ultimi in seguito, nel caso nostro, si allungano e si trasformano in cellule fisse, venendo a costituire delle capsule intorno alla cellula gigante, nella quale è avvenuta la trasformazione pigmentaria della massa microbica: si hanno così delle formazioni analoghe ai tubercoli dei vertebrati (v. tavola I). Tale processo è rapidissimo: le prime capsule si osservano già due o tre ore dopo l'inoculazione dei bacilli. Talora (B. del carbonchio, *B. perfringens*) invece del tubercolo si forma una specie di ascesso, composto di una massa di leucociti raccolti intorno a residui microbici pigmentati in bruno cupo.

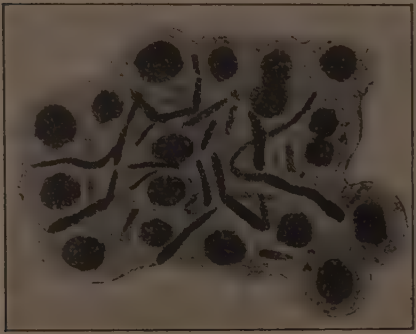


Fig. 8 – Cellula gigante da aggregazione di fagociti (da METALNIKOV).

Questi ammassi si trovano dapprima subito sotto la pelle; a poco a poco, l'epidermide e la cuticola cominciano a pigmentarsi; poi la cuticola si rompe, mettendo a nudo l'ammasso, mentre sotto di questo si forma una nuova epidermide, sì da venire praticamente ad espellere l'ammasso medesimo (fig. 9). La formazione di questi ascessi rappresenta un processo più complesso che quello della capsula del tubercolo. In quest'ultima, infatti, la membrana di tessuto connettivo derivante dai leucociti avvolge il focolaio da tutti i lati. Invece nell'ascesso lo strato di leucociti contiguo alla pelle secerne degli enzimi che decompongono i tessuti circostanti preparando un'uscita al pus: e questa decomposizione provoca la formazione di un pigmento oscuro, come abbiamo visto avvenire per la digestione endocellulare. Ma nello stesso tempo i leucociti che si trovano dal lato opposto del focolaio aderiscono fortemente fra loro, formando, sul fondo dell'ascesso, una barriera di tessuto compatto, che impedisce ai microbi di penetrare nell'interno dell'organismo. Vedremo in seguito, come questa neoformazione di barriere — che d'altro lato è analoga a quella che avviene nella formazione degli ascessi dei vertebrati — possa accostarsi alla formazione di barriere di subero come reazione immunitaria delle piante. Ma non voglio abbandonare l'argomento senza aver prima suggerito

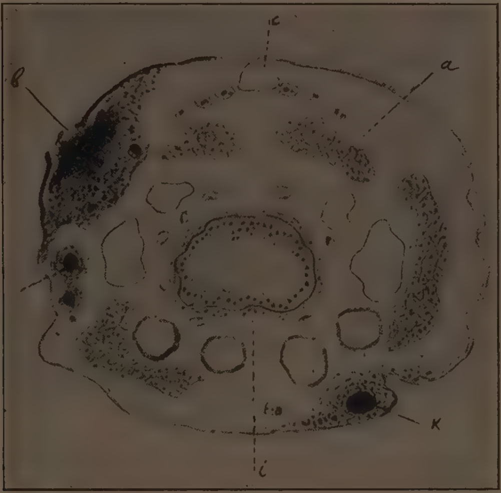
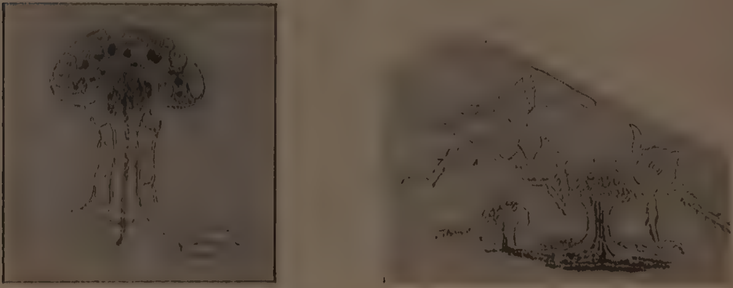


Fig. 9 – Formazione di ascessi pigmentati in *Galleria mellonella* inoculata con *B. perfringens* o *B. antracis* (da METALNIKOV).

non fosse che come tema di ricerca — un accostamento fra la formazione di questi pigmenti fagocitarî, frequenti anche per altri invertebrati e quella di pigmenti scuri, come residui della digestione di sostanze proteiche, nelle cellule ghiandolari profonde e nei vasi della linfa elaborata di *Drosophyllum lusitanicum*, pianta carnivora a digestione asettica sulla quale avremo occasione di ritornare (v. fig. 10 e v. pag. 174). Nè mi sembra del tutto fuor di luogo di richiamare qui anche il fenomeno — pur esso, come i precedenti, non ancora studiato nella sua essenza biochimica — che abbiamo chiamato *reazione pigmentaria*, e che appare come partecipante all'immunità congenita nelle piante (v. pag. 59, e tav. III).



A B

Fig. 10 - *Drosophyllum lusitanicum*. *A*, Ghiandola peduncolata che è stata in contatto con un insetto: le cellule degli strati assorbenti contengono grosse granulazioni alimentari. *B*, Parte di foglia quasi morta. Un insetto è ancora a contatto colle ghiandole; il peduncolo di queste, e le cellule della foglia, sono zeppi di granulazioni nere (da França).

Oltre all'accennata formazione di pigmenti, nei fagociti funzionanti possono vedersi alterazioni, sia del protoplasma — che può farsi più denso, oppure vacuolizzarsi — sia del nucleo.

Quanto all'immunità acquisita, gli insetti si possono vaccinare anche con microbi per essi patogeni usando, sia culture uccise per riscaldamento a 58° C., sia ceppi svirulentati per invecchiamento, sia piccole quantità di microrganismi virulenti. L'immunità così acquisita è specifica; appare con enorme rapidità, sì da potersi manifestare già dopo tre sole ore; si ottiene sia nelle larve, sia nelle crisalidi e nelle imagini; una volta stabilitasi perdura fino all'ultima metamorfosi; è, in certo grado, ereditaria, quando però la vaccinazione sia stata ripetuta sopra un certo numero di generazioni successive; è del tipo *da ipersensibilità*, in quanto i fenomeni fagocitari sono assai più pronti e vivaci negli animali immunizzati che nei nuovi; è prevalentemente istogena, ma talora è per lo meno accompagnata da produzione extracellulare di sostanze battericide *in vivo* (vaccinazione di larve di *Agrotis* con culture vecchie di *Bacterium melolonthae non liquefaciens* [PAILLOT]).

Ma lo stato immunitario si manifesta solo nel caso, che la reinoculazione venga fatta con una o poche dosi mortali del ceppo virulento; chè se, invece, questa è compiuta con una quantità più forte, i bruchi vaccinati muoiono prima dei nuovi, dimostrando così essersi stabilito uno stato di ipersensibilità in luogo di quello d'immunità. Il METALNIKOV classifica questa ipersensibilità come fatto anafilattico: egli avverte peró di non essere riuscito invece ad anafilattizzare il bruco contro il siero di cavallo. Recenti ricerche nostre affacciano la possibilità di una vaccinazione degli insetti (bachi da seta) per via orale.

L'immunità acquisita degli insetti dimostra una certa dipendenza dal sistema nervoso, in quanto la distruzione di determinati gangli e l'asportazione di determinati segmenti del corpo ne paralizza la formazione, mentre altri gangli e segmenti possono essere distrutti senza ch'essa ne sia danneggiata.

La possibilità di un'immunizzazione passiva degli invertebrati è dimostrata dal fatto, che larve di *Galleria* iniettate con siero antipneumococcico di cavallo, si sono dimostrate immuni ad un'infezione pneumococcica che in caso contrario sarebbe stata mortale (METALNIKOV, citato in CANTACUZÈNE).

Recentissime ricerche di CHORINE stanno a dimostrare, che, mentre l'inoculazione di dosi minori che la mortale di tossina difterica provocano in *Galleria mellonella* una spiccata ipersensibilità, l'inoculazione di anatossina difterica (cioè tossina che ha perduto, per opportuno trattamento, il potere tossico ma non quello antigeno) provoca, dopo qualche giorno, l'immunità, per formazione di antitossina nel sangue dell'insetto. Questo sangue, difatti, salva dall'azione della tossina tanto le dette larve, quanto la cavia. E per converso, l'inoculazione di siero antidifterico salva le larve dall'azione di dosi da cinque a dieci volte più forti della *minima mortale*. Senza dilungarci in particolari possiamo dunque dire che, rispetto alla tossina difterica, *Galleria mellonella* ha un comportamento analogo a quello degli animali superiori.

Nel complesso, dunque, l'immunità negli invertebrati appare basata più sui fattori istogeni che sugli umorali, ed è sopratutto del tipo dell'immunità da ipersensibilità.

OPERE CITATE

Pag.

7 e segg. – Lustig A.; Rondoni P. e Galeotti G., *Patologia generale.* 7ª ediz. (Milano, Società Editrice Libraria, 1928).

9 – Metalnikov S., *Contribution à l'étude de l'immunité chez les invertébrés* (Annales de l'Institut Pasteur, vol. XL, 1926, pag. 787).

10 – Lustig (vedi pag. **1**).

12 – Blackmann, *Discussion on some similarities and dissimilarities between plant and Animal diseases. With special reference to immunity and virus diseases* (British med. J., 21 ottobre 1922, n. 3225).

– Ferraris T., *Trattato di Patologia e terapia vegetale* (Ed. U. Hoepli, Milano, 1926).

– Jacoby M., *Pflanzliche Toxine* (*Phytotoxine*) *und deren Antitoxine* (Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, begründet von W. Kolle und A. v. Wassermann. — 3ª ediz., vol. III, 1927, pag. 107).

– Altana G., *La infezione vaccino-vaiolosa e la sua eziologia* (Rivista di Igiene e di Sanità pubblica, anno XXIII, 1912).

15 – Scarpellini A., *La profilassi antivaiolosa con vaccino bovino* (Padova, Pizzatti e Scudieri, 1922).

– Paillot A., *Les caractères de l'immunité chez les Insectes.* (Comptes Rendus de la Société de Biologie, Tome du 75.me anniversaire de la fondation de la Société de Biologie). Masson et C., Paris, 1923, pag. 130.

– Cantacuzène J., *Le problème de l'immunité chez les invértebrés.* (Comptes Rendus de la Société de Biologie, Tome du 75.me anniversaire de la fondation de la Société de Biologie). Masson et C.ie, Paris, 1923, pag. 48.

– Metalnikov S., *L'infection microbienne et l'immunité chez la mite des abeilles* (*Galleria mellonella*). Paris, Masson, 1927.

16 – Scarpellini A., *Sulla trasmissione della immunità vaccinica cutanea in animali sani col trasporto di lembi di cute di animali vaccinati* (L'Igiene moderna, 1923, fasc. 1).

17 – Centanni E., *Trattato di Immunologia.* (Milano, Società Editrice Libraria, 1921).

– Belfanti, *L'Immunità.* Capitolo nel Trattato di Anatomia patologica del Prof. Sen. P. Foà. (UTET., Torino, 1923).

– Zironi A., *Azioni leucocitarie e produzione di immuncorpi* (Bollettino della Società Medico-chirurgica di Modena, 1915).

– Nukada e Matsukaki (Journ. exp. med., vol. 40, pag. 661, 1924).

Pag.

18-19 – Zironi A., *Sulla natura dell'immunità.* Note da 1 a 6. (Bollettino dell'Ist. Sieroter. Milanese, 1924, '27, '28, '29.

– Zironi A., *Sui fattori dell'immunità post-vaccinale e della guarigione nel tifo* (Rendiconti del Reale Istituto Lombardo di Scienze e Lettere, vol. LIII, pag. 727, 1920).

– Zironi A., *Fenomeno paradosso e reazione anafilattica nelle infezioni.* — Nota preventiva. (Rendiconti del Reale Istituto Lombardo di Scienze e Lettere, vol. LIII, pag. 756, 1920).

19 – Cantacuzène (vedi pag. **15**).

– Metalnikov (vedi pag. **9** e **15**).

– Metalnikov S., *Rôle des réactions de défense dans l'immunité.* (Zeitschrift für Immunitätsforschung, vol. 61, pag. 27, 1929).

20 – Metalnikov (vedi pag. **9**).

21 – Cantacuzène (vedi pag. **15**).

– Paillot (vedi pag. **15**).

– Metalnikov (vedi pag. **9**).

22 – Cantacuzène (vedi pag. **15**).

– Metalnikov (vedi pag. **15**).

23 – Metalnikov (vedi pag. **9**).

24 – Belfanti S., *I veleni animali nella Biologia.* Relazione alla VI Riunione della Società Italiana di Biochimica. (Bologna, ottobre-novembre, 1926).

25 – Redaelli P., *Études sur l'inflammation tuberculeuse.* Note I: *Histopathologie de la tuberculose et nature de l'immunité naturelle chez les animaux refractaires et particulièrement chez la chenille de Galleria mellonella.* (Bollettino della Sezione Italiana della Società internazionale di microbiologia, anno I, 1929, pag. 16).

– Metalnikov (vedi pag. **15**).

26 – Redaelli P., *Studi sulla infiammazione tubercolare.* Nota I. (Boll. Ist. Sieroter. Mil., vol. VIII, fasc. 1, 1929).

28 – Cantacuzène (vedi pag. **15**).

– França C., *Recherches sur le « Drosophyllum lusitanicum » Link et remarques sur les plantes carnivores.* (Archives portugaises des Sciences Biologiques, vol. I, 1922).

29 – Chorine V., *Immunité antitoxique chez les chenilles de « Galleria mellonella ».* (Annales de l'Institut Pasteur, vol. XLIII, 1929, pag. 955).

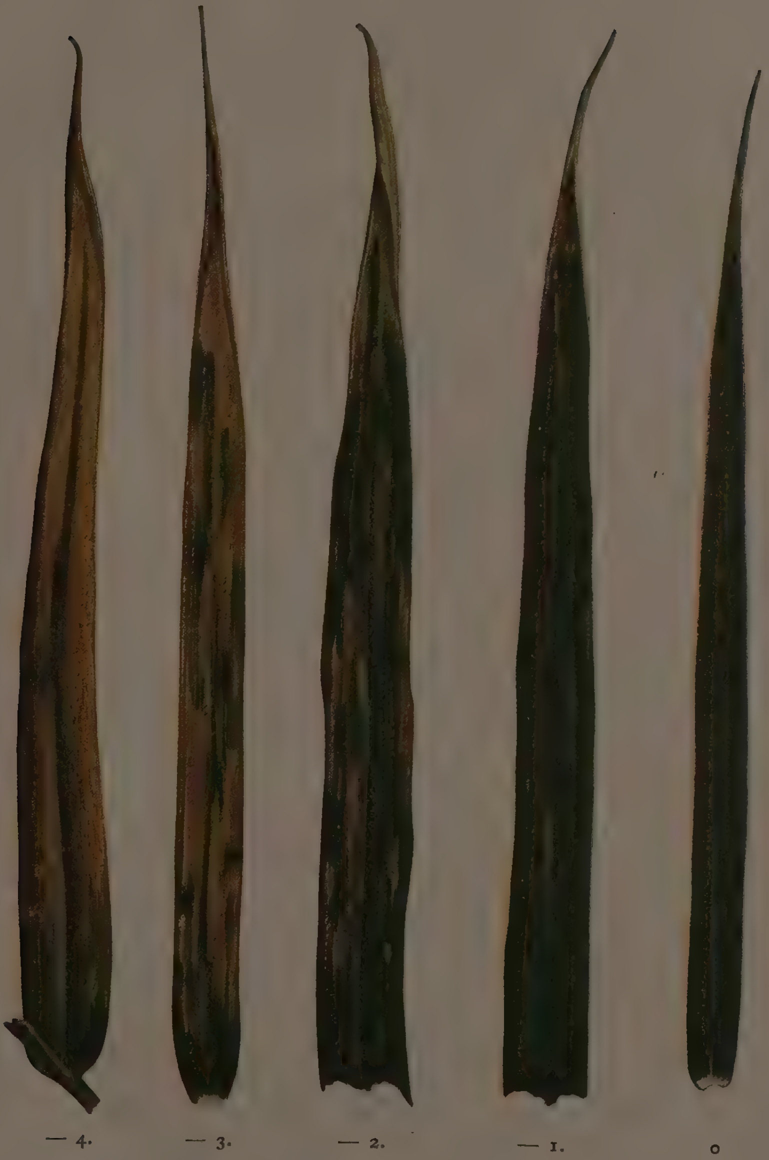
– Paillot, citato in Metalnikov (vedi pag. **15**).

– Carbone D. e Fortuna E., *La vaccinazione dei bachi da seta.* Nota preventiva. (Boll. Ist. Sierotr. Milan., novembre 1928).

– Carbone D., *La vaccinazione dei bachi da seta.* (Rendiconti del R. Istituto Lombardo di Scienze e Lettere, vol. LXII, fasc. 1-4, 1929).

– Carbone D., *La vaccinazione dei bachi da seta* (Atti della Società Lombarda di Scienze Mediche e Biologiche, vol. XVIII, 1929).

– Chorine V. e Korvine-Kroukovsky M., *Sur l'immunisation de fragments isolés du corps des chenilles de « Galleria mellonella »* (C. R. Soc. Biol., 1929, vol. 100, pag. 15).



Scala comparativa di Eriksson. Varia recettività del frumento alla *Puccinia glumarum*. Spiegazione nel testo (Da Vavilov, *Immunity ef Plants to Infections Diseases*, Musca 1919).

CAPITOLO II.

L'IMMUNITÀ CONGENITA NEI VEGETALI.

CARLO ARNAUDI

§ 1. – GENERALITÀ.

Il comportamento delle piante rispetto ai germi delle malattie che le possono colpire è grandemente diverso da una specie all'altra, non solo, ma spesse volte da una varietà e razza ad un'altra della stessa specie. Le une sono facilmente colpite, mentre le altre sono pocò o punto attaccate da una stessa specie di parassita. Chiameremo le prime, specie e varietà immuni o resistenti, le seconde, recettive o suscettibili. Reciprocamente si hanno parassiti che possono colpire un numero grande di piante appartenenti a specie ed anche a generi diversi, ed altri che hanno una spiccata tendenza a colpire solo determinate specie e varietà. In altre parole i parassiti dei vegetali presentano un grado di specializzazione diverso ed estremamente variabile.

Tutte le varietà di grano appartenenti a specie polimorfe quali il *Triticum durum*, il *Triticum monococcum*, *Triticum turgidum* e *Triticum polonicum* sono immuni verso la ruggine bruna (*Puccinia triticina*). Altre varietà di grano sono immuni o poco recettive alla *Puccinia glumarum*. Esistono invece pochissime varietà immuni al carbone, e in alcune specie, come ad esempio nel *Panicum miliaceum* non esistono affatto varietà immuni. Tra le rose, centinaia di varietà sono resistenti alla ruggine (*Phragmidium subcorticium*). Cosí fra le molte varietà di lino alcune resistono ed altre sono invece suscettibilissime al *Fusarium lini*. Fra le viti di varietà europee ne possiamo osservare alcune più o meno resistenti alla peronospora; coltivate nello stesso ambiente le varietà Barbera, Dolcetto, ecc., subiscono più facilmente gli attacchi della *Plasmopara viticola* di altre varietà come il Trebbiano verde, il Greco, ecc. (FERRARIS).

Gli stessi individui appartenenti alla medesima varietà di piante, coltivate nello stesso ambiente, in senso largo inteso, presentano un grado diverso di resistenza o di recettività, legato a quelle imponderabili caratteristiche individuali che sono uno dei peculiari attributi degli esseri viventi.

In una medesima pianta la recettività per un determinato agente infettivo può variare da un organo all'altro, anche con parassiti ai quali si siano fatte passare artificialmente le barriere meccaniche della difesa esterna. CARBONE inoculò con *B. felsineus* contemporaneamente il fusto ed il tubero di una dalia, con pipette Pasteur lasciate *in situ*. Mentre il fusto non subì alterazione alcuna, nel tubero non è tardata a presentarsi una tipica gangrena molle con rapida ed abbondante moltiplicazione dei germi inoculati.

È necessario ricordare che il concetto di immunità e di recettività ha un valore più o meno assoluto a seconda delle piante e dei parassiti considerati. La maggior parte dei funghi parassiti, che sono gli agenti principali delle malattie infettive delle piante, è di natura limitata nella scelta dell'ospite e infetta determinati generi e determinate specie di piante; in alcuni casi il parassita è limitato anche a un solo genere. Dato che la possibilità d'infettare un solo genere rappresenta immunità per tutti gli altri, in questi casi per tutti i generi e specie di piante resistenti si può parlare di immunità in senso assoluto. Dal punto di vista pratico però hanno maggiore importanza i concetti di immunità e recettività nei riguardi di varietà e razze di una determinata specie. Allora il concetto di immunità è relativo. Quando un determinato parassita può infettare alcune varietà di una determinata specie, le altre varietà non sono mai assolutamente immuni, ma possono presentare gradi molto variabili di suscettibilità, giungendo anche a gradi piccolissimi di recettività per cui praticamente si possono considerare immuni.

Per distinguere la differenza nel grado di suscettibilità alle malattie, l'ERIKSSON ha proposto una scala di recettività nella quale si nota con —4 il grado massimo e con —3, —2, —1 i gradi minori. Con 0 si intende l'assenza totale del parassita. La tavola a colori dà un concetto concreto del modo col quale si usa e si interpreta questa scala. Essa riguarda varietà diverse di grano infestate da *Puccinia glumarum* in condizioni ottime per l'infezione. Nella figura, la foglia —4 rappresenta piante molto suscettibili: in essa delle pustole comparativamente grandi ricoprono la parte superiore della pianta; non si hanno macchie gialle e tessuto distrutto attorno alle pustole. La foglia —3 è di pianta debolmente resistente: la parte superiore di essa è parzialmente libera dalle pustole; alla parte media vi è qualche pustola ma queste sono più sparpagliate e di minore dimensione che nel primo caso. La —2 appartiene a piante resistenti: singole pustole assai piccole sono sparpagliate sulla foglia, circondate da macchie gialle ben distinte; una parte delle pustole non attraversa l'epidermide. La —1 è di pianta molto resistente: si osservano poche pustole circondate da macchie gialle; qualcuna di esse non riesce a rompere l'epidermide; poche macchie gialle o brune rappresentano i soli sintomi della malattia. La foglia 0 rappresenta piante pressochè immuni, in essa mancano completamente le pustole dei funghi.

Naturalmente la scala di ERIKSSON ha valore comparativo e per ogni malattia e varietà di piante essa va elaborata appositamente.

È evidente come una conoscenza, per quanto più possibile esatta, del grado di resistenza che le piante coltivate oppongono alle più gravi malattie cui vanno soggette sia di alto interesse pratico, sopratutto per la ricordata variabilità nella resistenza di singole razze, onde è resa possibile una scelta per determinate condizioni ambientali, e un'opportuna utilizzazione nell'opera miglioratrice della selezione artificiale. È naturale quindi che la massima parte degli studi sulla immunità nei vegetali siano stati volti a stabilire sperimentalmente il grado di resistenza congenita e trasmissibile per ereditarietà di determinate razze di piante ad una o ad un gruppo di malattie parassitarie, nonchè le influenze dei vari fattori mesologici quali il clima, il terreno, le concimazioni etc. rispettivamente sulle piante e sui parassiti. Assai meno numerosi sono gli studi sul meccanismo della immunità congenita, ed in genere le svariate teorie proposte peccano tutte di unilateralità. Quando non sono ispirate ad analogie puramente teoriche con la immunologia animale esse sono dedotte da osservazioni separate o da esperienze condotte su determinate coppie di piante e parassiti che realizzano delle condizioni troppo speciali, le quali possono eventualmente mettere in evidenza un fattore, ma non possono permettere delle generalizzazioni.

Non mi preoccuperò perciò, nelle pagine seguenti, della esposizione sistematica delle teorie che saranno ricordate solo per chiarezza di riferimenti, ed esporrò invece un certo numero di fatti sperimentalmente constatati, che si possono interpretare come azioni difensive congenite delle piante, scelti in modo da esemplificare possibilmente tutti i tipi di fenomeni riferibili alla autodifesa delle piante largamente intesa. Anche in questa esposizione, avverto subito che non è mio proposito fare un tentativo di rassegna bibliografica della letteratura dell'argomento, ma di raccogliere solo e coordinare i risultati di quelle esperienze che a mio parere possono in qualche modo illuminare l'intimo meccanismo dell'immunità congenita. Premesse alcune considerazioni sulla distribuzione della immunità nelle piante comprendenti il grado di specializzazione dei parassiti e l'influenza dell'ambiente, dividerò i fattori di resistenza delle piante in:

1) le difese meccaniche legate alla particolare struttura anatomica dei tessuti parassitati;

2) l'azione delle sostanze contenute nei succhi cellulari ed intercellulari normali delle piante prima dell'attacco del parassita;

3) le reazioni istogene ed umorali dei tessuti in seguito all'azione del parassita.

§ 2. – SULLA DISTRIBUZIONE DELLE MALATTIE NELLE PIANTE. SPECIALIZZAZIONE DEI PARASSITI.

La distribuzione dell'immunità naturale nelle piante è largamente legata al grado di specializzazione dei parassiti ed alla posizione genetica delle piante. Tanto più debole è la specializzazione di un parassita su generi e specie di piante ospiti, tanto minore è la probabilità di trovare in una determinata specie delle varietà immuni. Se un fungo parassita non risente delle caratteristiche anatomo-fisiologiche di generi e specie diverse è poco probabile possa venire influenzato ed ostacolato nel suo sviluppo dalle differenze necessariamente meno accentuate che presentano le varietà di una medesima specie.

Al contrario un parassita che presenta una netta specializzazione per poche specie, risente facilmente delle diverse reazioni presentate dalle varietà e si possono allora avere varietà immuni o meno suscettibili. Il VAVILOV dal 1911 al 1919 ha studiato a fondo l'argomento e dalla sua opera, di cui mi sono largamente servito nella compilazione di questo paragrafo, riporto la tabella seguente che dà un riassunto delle relazioni fra il grado di specializzazione dei parassiti e l'esistenza di varietà immuni nei cereali.

Un parallelismo identico si può osservare in altri generi di piante ospiti colpiti da altri parassiti.

La *Sclerotinia trifolium* infetta non solo il genere *Trifolium*, ma anche il *Medicago*, l'*Onobrychis* ed altri generi di *Papilionaceæ*; in altre parole è pochissimo specializzata, parallelamente non si osservano varietà di trifoglio immuni a questo parassita. La *Plasmodiophora brassicae* infetta molti generi di *Crucifere* e nessuna varietà di cavolo si è potuta osservare immune da essa. D'altro canto molti parassiti appartenenti a *Peronosporaceæ*, *Erysiphaceæ*, *Uredinaceæ* sono strettamente specializzati e ne risulta l'esistenza di varietà immuni a questi parassiti. Pure la *Melanospora lini* TUL. è strettamente specializzata, e la forma biologica di questo fungo che ordinariamente attacca il lino non può infettare altre specie di *Linum*. Ne conseguono cosí varietà di lini che sono resistenti a questa ruggine.

I parassiti poco specializzati, e che possono quindi attaccare un gran numero di specie e varietà sono stati distinti fin dal 1890 da KLEBAH ed ERIKSSON come specie collettive comprendenti varietà fisiologiche diverse specializzate per le singole specie di piante attaccate. In questi ultimi tempi la tendenza a considerare come varietà fisiologiche autonome le diverse forme di uno stesso parassita riscontrate su piante diverse si è ancor più accentuata. Secondo STAKMAN e la sua scuola la *Puccinia graminis* comprenderebbe almeno 37 varietà fisiologiche per cui una varietà di grano resistente

ESISTENZA DI VARIETÀ IMMUNI IN DIPENDENZA DEL GRADO DI SPECIALIZZAZIONE DEI PARASSITI NEI CEREALI.

Nome del parassita	Grado di specializzaz. del parassita	Elenco dei generi e specie attaccati dal parassita	Piante coltivate sulle quali il parassita vive solitamente	Esistenza di varietà immuni da questo parassita
Claviceps purpurea	Molto debole	Segale, Anthoxanthum, Hierochloa, Hordeum, Dactylis, Phalaris, Briza, Calamagrostis, Poa (ed altri generi).	Segale	No
Puccinia graminis f. avenae	Molto debole	Avena, Alopecurus, Milium, Lamarckiana, Bromus, Festuca, Phalaris, Briza, Agrostis (ed altri generi).	Avena	No (sù oltre 450 varietà esaminate sòlo 2 si dimostrarono meno suscettibili).
Puccinia graminis f. hordei	Debole	Hordeum, Triticum repens T. caninum, Elymus, Arenarius, Bromus secalinum.	Orzo	No
Puccinia graminis f. tritici	Debole (prossimo al medio)	Triticum e in debole grado anche Segale.	Grano	In genere tutte le varietà sono suscettibili, però qualche varietà di T. dicoccum e T. monococcum sono comparativamente meno attaccate.
Ustilago nuda Kell.	Debole	Hordeum vulgare, Triticum vulgare.	Orzo	No
Ustilago tritici Yen.	Debole	Tutte le specie coltivate di grani. Segale.	Grano	No
Ustilago Avenae Yen.	Medio	Avena sativa, A. fatua, A. Ludoviciana, A. Sterilis, A. clauda, A. pilosa, A. barbata, A. Wiestii.	Avena	Poche varietà appartenenti a specie geneticamente distinte dalla A. sativa come l'A. brevis, A. strigosa, A. byzantina sono immuni da questo fungo.
Tilletia tritici Wint.	Debole	Tutte le specie di grano coltivate. Aegilops cylindrica, A. ventricosa.	Grano	No (1)

Puccinia coronifera	Medio	Avena, ma non tutte le specie.	Avena	Parecchie varietà della A. sativa sono suscettibili.
Erysiphe gram. D. C. f. avenae	Medio	Avena - ma non tutte le specie - A. sempervirens, A. bromoides, A. brevis.	Avena	Si hanno molte varietà suscettibili.
Erysiphe graminis f. tritici	Stretto	Triticum sativum.	Grano	Esistono gran numero di varietà immuni.
Erysiphe graminis f. hordei	Stretto	Hordeum vulgare.	Orzo	Esistono molte varietà immuni.
Puccinia simplex	Stretto	Hordeum vulgare.	Orzo	Esistono considerevoli varietà immuni.
Puccinia glumarum f. hordei	Stretto	Hordeum vulgare.	Orzo	Esistono considerevoli varietà immuni.
Puccinia glumarum f. tritici	Stretto	Triticum sativum.	Grano	Gran numero di varietà immuni.
Puccinia triticina	Stretto	Triticum sativum.	Grano	Gran numero di varietà immuni.
Helminthospcrium gramineum Rabh.	Stretto	Hordeum vulgare.	Orzo	Esiste numero considerevole di varietà immuni.

---

(1) Kirchner nel suo lavoro del 1916 indica un numero di varietà di grano immuni alla *Tilletia tritici* ma qualcuna di queste varietà risultò suscettibile negli esperimenti di Hecke come in quelli di Vavilov. Secondo V. il metodo di infezione usato da K. è causa della diversità dei risultati.

in una regione lo sarebbe in quanto si troverebbe in presenza di forme fisiologiche non specializzate per essa; trapiantata in un altro paese potrebbe divenire suscettibile per le forme fisiologiche ivi esistenti.

Christensen Y. e Stakman che hanno studiato il carbone del mais nello Stato del Mississipì credono di poter distinguere almeno 15 forme fisiologiche che avrebbero caratteri culturali diversi nonchè diverso grado di virulenza. Rodenhiser H. A. seguendo questo criterio considera l'*Ustilago nuda* e l'*Ustilago tritici* come due forme fisiologiche di una stessa specie, la prima specializzata per l'orzo, la seconda per il frumento. Questo stesso autore ritiene che *Tilletia levis* comprenda quattro forme fisiologiche specializzate e *Tilletia tritici* altre due, fra loro distinte per il grado diverso di patogenicità per alcune varietà di frumenti.

Gäumann egualmente distingue tre forme fisiologiche della *Peronospora brassicae* specializzate: 1° la forma *brassicae* che attacca *B. oleracea*; *B. napus*, *B. rapa*, *B. nigra*, *B. juncea*, *B. tournefortii* e *fructicosa*; e raramente le altre; 2° la forma *sinapidis* che attacca specialmente la *Sinapis arvensis*, ma che può vivere anche su altre; 3° la forma *raphani* che vive sopratutto su *Raphanus raphanistrum* e *sativus*, ma può vivere anche su altri. Secondo questo autore talvolta le piccole specie biologiche o varietà fisiologiche che dir si voglia, mostrerebbero delle modificazioni morfologiche come nella *Peronospora parasitica* che avrebbe conidi di grandezza diversa nelle sue diverse varietà fisiologiche. Secondo Köhler le specie fisiologiche sarebbero determinate da una affinità per particolari gruppi specifici di ospiti derivante dalla reciproca combinazione delle esigenze vitali dei parassiti e dei vari fattori di resistenza degli ospiti.

Il valore di queste forme fisiologiche specializzate non è definitivamente accertato; se alcune di esse come già ho detto, appaiono realmente con caratteri stabili, e possono passare da una regione all'altra, altre pare più esatto interpretarle come forme locali dovute a particolari condizioni di ambiente o legate alla distribuzione delle piante ospiti. I funghi parassiti sono molto sensibili alla composizione chimica dei succhi delle piante parassitate e possono acquistare facilmente sotto le influenze di questi dei caratteri di adattamento aventi una certa fissità (MONTEMARTINI, BLUMER): l'attribuire alle forme biologiche strettamente specializzate quasi un valore di entità sistematica come fanno vari autori, è per il maggior numero dei casi per lo meno prematuro e da dimostrarsi.

Altra regola messa in singolare evidenza dai lavori di VAVILOV che ci dà ragione della distribuzione dell'immunità nelle piante, è la posizione genetica delle varietà delle singole specie parassitate. La distribuzione dell'immunità verso parassiti molto specializzati per il frumento, l'avena, l'orzo, è connessa evidentemente con la differenziazione genetica delle varietà. Fra le specie di grano il *Triticum monococcum* ad es. ha tutte le varietà resistenti alle ruggini bruna, gialla e nera, fatto questo che le distingue singolarmente da tutte le altre varietà di frumento. Geneticamente il *T. monococcum* occupa un posto separato fra i frumenti e non dà ibridi fertili con le altre specie.

Da queste osservazioni risulta una certa regolarità di reazioni fra una medesima varietà e differenti parassiti, e nella tabella stessa riportata se ne hanno varii esempi. Una varietà di avena fortemente immune verso la ruggine coronata è di solito comparativamente pure resistente all'oidio. Nelle viti si osserva un fenomeno analogo. Le varietà americane sono immuni contemporaneamente alla *Plasmopara viticola,* all'*Uncinula necator,* alla *Manginia ampelina;* mentre le varietà europee sono suscettibilissime a questi funghi. Nelle rose, le varietà fortemente immuni contro l'oidio presentano pure una resistenza notevole verso le ruggini. Il VAVILOV, ha studiato il grado di reazione delle piante a varie malattie, come metodo di prova biologica sistematica e genetica per stabilire le relazioni filogenetiche degli organismi parassitati. Provando simultaneamente questo metodo insieme alla ibridazione ed alle reazioni sierologiche, egli ha potuto dimostrarne il valore per molti casi.

§ 3. – INFLUENZA DELL'AMBIENTE SULLA RESISTENZA DELLE PIANTE ALLE MALATTIE.

L'influenza dell'ambiente nei suoi vari fattori sul diffondersi delle malattie delle piante è cosa assai nota. Basti ricordare l'importanza della umidità e della temperatura sul diffondersi della Peronospora della vite. I rapporti di dipendenza dell'infezione con questi fattori sono talmente evidenti che si sono potuti impiantare con buon risultato i servizi di segnalazione onde fare i trattamenti anticrittogamici tempestivamente, con efficacia sicura e nel contempo con risparmio di anticrittogamici e di mano d'opera.

A mano a mano che si vanno completando le nostre conoscenze sulla biologia dei parassiti, veniamo a determinare con esattezza le condizioni di germinabilità delle spore ed a rilevare le condizioni necessarie e favorevoli allo sviluppo dei germi infettivi sulle piante ospiti. Da queste ricerche si rileva come il fattore che ha maggiore importanza nella resistenza delle piante e sulla diffusione di parassiti sia il calore. Ma questo, agendo contemporaneamente sulle piante ospiti come sui parassiti, rende difficile la distinzione degli effetti diretti sulla pianta da quelli indiretti prodotti attraverso le sue influenze sul microrganismo. La stessa cosa può dirsi per la luce e l'umidità.

Ma ai nostri fini interessa essenzialmente rammentare le influenze dell'ambiente sulle piante per quelle eventuali modificazioni in esse indotte che le rendono più o meno suscettibili alle infezioni.

Generalmente la veduta più diffusa è quella secondo cui il grado d'immunità che una pianta presenta è variabile sotto l'influenza dell'ambiente onde una medesima varietà può essere suscettibile in un determinato ambiente e immune in un altro. Occorre invece tenere distinta l'immunità meccanica dalle altre forme d'immunità legate alle proprietà più strettamente fisiologiche della pianta. Per quanto riguarda l'immunità meccanica, l'influenza dell'ambiente è abbastanza evidente. L'immunità dei cereali connessa al termine della fioritura, nei riguardi dell'infezione da golpe e da sperone, è relativamente mutevole sotto l'influenza delle varie temperature e della umidità all'epoca della fioritura. Per quanto riguarda invece la resistenza fisiologica, l'influenza dell'ambiente deve essere minima. Confrontando i rapporti di determinate specie e varietà di piante con determinate specie di funghi parassiti in plaghe diverse, si trovano molti esempi sulla costanza dell'immunità. Tale il comportamento di molte varietà di rose rispetto al *Phragmidium subcorticium* ed alla *Sphaeroteca pannosa* che è identico in Inghilterra (BIFFEN) in Germania (LAUBERT) in Russia (VAVILOV).

Il grano persiano (*T. vulgare* varietà *fuliginosum*) assolutamente immune all'*Erysiphe graminis* in Russia, ha mantenuto questa proprietà anche coltivato in Inghilterra (Vavilov, Spinks). Ma la variabile suscettibilità di alcune varietà di frumenti all'*Erysiphe* può essere connessa a fattori ambientali che esercitano la loro azione indirettamente sulla immunità meccanica. A questo proposito Rivera dimostrò che la predisposizione del frumento all'attacco dell'*Erysiphe*, è legata alla diminuzione del turgore nella pianta in seguito a siccità del terreno, ed in qualche caso a forte innalzamento della temperatura. L'abbassamento dello stato di tensione cellulare diminuirebbe la resistenza meccanica della parete esterna delle cellule epidermiche alla penetrazione del parassita.

Vavilov, allo scopo di provare la stabilità dell'immunità fisiologica, ha coltivato numerose varietà di grano non eguali nella loro suscettibilità di fronte alla ruggine bruna (*P. triticina*) in diverse zone: Russia centrale (Mosca, Vladimir) Russia meridionale (Kharkov, Poltava), Russia orientale (Saratov) e nel Turkestan (Tashkent). In tutte queste regioni la specie di ruggine predominante per il frumento è quella bruna, ed in tutte queste località i diversi frumenti si dimostrarono del tutto simili nei riguardi del parassita. Quelli che furono più resistenti a Mosca lo furono egualmente nel Sud, nell'Est della Russia nonchè nel Turkestan.

Circa l'influenza della natura del terreno sulla resistenza delle piante si hanno pochi dati e non eccessivamente attendibili. Un numero maggiore di esperienze è stato fatto per determinare l'azione dei concimi, ed anche in questo campo i risultati non sono sempre confrontabili tra loro — date le diverse modalità di esperimento — e raramente sono concordanti.

La nozione che pare più accertata è l'influenza sfavorevole delle eccessive concimazioni azotate (Schander, Averna, Montemartini, Spinks, Pantanelli, Schaffnit e Volk, Jordi). Secondo questo ultimo autore i sali azotati agirebbero sulle piante di frumento e d'orzo rendendo più sottile la cuticola epidermica delle foglie il che renderebbe più facile la penetrazione del parassita.

Una notevole importanza ha pure l'età della pianta o degli organi in rapporto alla resistenza. In generale le piante suscettibili all'oidio sono più attaccate allo stato giovane, o negli organi in via di accrescimento (MONTEMARTINI, RIVERA, FOEX, PANTANELLI), mentre le parti arboree giunte a sviluppo avanzato e le foglie completamente sviluppate sono più resistenti. Cosí il modo di allevamento e la potatura di molte piante, appunto per l'influenza che possono avere sulla maggiore rapidità di sviluppo, possono rappresentare un mezzo per aumentarne la resistenza.

Con infezioni sperimentali, GRIFFITHS ha dimostrato che anche varietà di granturco immuni solitamente da *Ustilago zeae* possono essere attaccate da questo parassita quando l'inoculazione venga fatta nei tessuti giovani. POOL e KAY hanno dimostrato come la resistenza di alcune barbabietole da zucchero alla *Cercospora beticola* si possa mettere in rapporto anche con lo sviluppo fogliare della pianta nonchè con il numero e la grandezza degli stomi attraverso i quali solamente può penetrare il micelio del parassita.

In generale si può concludere che se non è teoricamente impossibile che taluni fattori ambientali possano influire sopra la resistenza delle piante alle malattie, non può tuttavia ritenersi dimostrato che l'ambiente possa trasformare una varietà naturalmente immune in una suscettibile o viceversa. Le varie constatazioni fatte sulla influenza dei concimi azotati sulla maggiore suscettibilità delle piante, possono benissimo spiegarsi con il fatto che l'aumento di sviluppo fogliare ed il prolungato periodo vegetativo delle piante sotto la influenza di concimi, prolunghi pure il periodo di possibile infezione. Le condizioni ambientali agendo contemporaneamente su parassiti ed ospiti possono creare delle condizioni particolarmente favorevoli alle epidemie crittogamiche, per esempio: alte temperature e siccità che diminuiscono il turgore delle cellule, accompagnate da rugiade notturne che favoriscono lo sviluppo dei germi; oppure giornate umide seguenti periodi caldi primaverili (RIVERA). I vari fattori ambientali possono dare condizioni estremamente variabili con conseguenze mutevolissime sulla vegetazione e sulle infezioni, sì da trarre facilmente in inganno chi analizzi un solo fattore della resistenza delle piante in una determinata plaga.

§ 4. – LA DIFESA MECCANICA.

Il concetto della difesa meccanica dei tessuti vegetali è abbastanza semplice e tale da colpire subito l'attenzione dell'osservatore; pertanto una delle prime teorie proposte per spiegare l'immunità congenita fu quella di COBB dell'immunità meccanica.

Gli ostacoli meccanici alla penetrazione dei funghi nei tessuti possono essere dati dalla cuticola della epidermide particolarmente spessa, dalla rapidità della cicatrizzazione e formazione di tessuto suberoso delle intaccature e rotture di tessuti esterni. Le particolarità della fioritura possono anche rappresentare una difesa meccanica, per es. la fioritura chiusa del grano rispetto al golpe. Parimenti la produzione di varii liquidi e di resine da parte dei tessuti esterni può rappresentare un impedimento ai parassiti di penetrare nei tessuti corticali. Questo modo di difesa è denominato da molti AA. (BLACKMANN, VAVILOV) immunità passiva in quanto sono le condizioni morfologiche particolari dei tessuti vegetali che impediscono la entrata dei parassiti, senza che alcun rapporto sia intervenuto tra le cellule della pianta e il parassita medesimo. Questa denominazione può fare insorgere però della confusione di concetti, dato il significato diverso che si dà all'immunità passiva in immunologia generale (vedi pag. 11) pertanto non la adotterò in questa esposizione.

La *Botrytis cinerea*, fungo comunissimo che può vivere da saprofita oltre che da parassita, dà un esempio abbastanza chiaro della difesa meccanica. È noto che il disfacimento dei tessuti invasi da questo fungo incomincia a qualche distanza dalle ife invadenti. Questa azione a distanza è cagionata da un enzima prodotto e diffuso dal micelio, che dissolve i tessuti e provoca la separazione e la morte delle cellule. L'enzima può essere estratto da colture pure della muffa, e quando venga messo a contatto con le cellule interne dei tessuti di piante suscettibili, provoca gli stessi effetti dell'infezione del fungo. Ma se viene posto sopra la foglia in luogo d'essere inoculato non riesce a passare la cuticola esterna e il suo effetto è nullo. NOBÉCOURT ha constatato un risultato analogo immergendo in estratto di *Botrytis cinerea* dei pezzi di fusto di fagiolo; il rammollimento dei tessuti dovuti all'azione dell'enzima si constatava solo alle due superfici di taglio, mentre i tessuti ricoperti dalla cuticola esterna rimanevano protetti. La penetrazione normale dei parassiti fungini nei tessuti vivi, quando non avvenga attraverso ferite prodotte da cause accidentali, da insetti, potature, ecc., si compie attraverso gli stomi oppure attraverso la cuticola esterna. Noi sappiamo che tutti i parassiti hanno un proprio modo caratteristico di penetrazione o per lo meno che in determinati momenti del loro ciclo evolutivo hanno un determinato modo di introduzione. (È ancora inspiegabile perchè tanti funghi non passino attraverso la via naturale degli stomi e debbano passare invece attraverso l'epidermide). Così la *Botrytis cinerea* può penetrare attraverso cellule cuticolari di alcune piante con un meccanismo che è comune a molti altri parassiti. L'estremità del tubo germinale formatosi dalla spora aderisce strettamente alla superficie della pianta ospite, e da questo canale germinale fuoriesce una estremità miceliare che si fora il passaggio attraverso le cellule con una pressione meccanica. Attraverso il foro passa l'enzima dissolvente, e l'infezione si propaga. È chiaro che se la cuticola è particolarmente resistente alla pressione del tubo germinale del fungo, la pianta ospite riesce ad evitare l'infezione.

CONANT studiando il marciume radicale delle piantine di tabacco dovuto alla *Thielavia basicola* ha potuto stabilire che l'infezione avviene sopratutto alla base delle ramificazioni delle radici, nel punto ove la nuova radice rompe i tessuti corticali della radice madre. Ora nelle varietà resistenti, questo autore ha osservato che le radici sono caratterizzate da una più rapida cicatrizzazione dovuta ad una più vivace segmentazione delle cellule del periciclo, sì da occludere l'entrata del micelio parassita, mentre nelle varietà suscettibili tale cicatrizzazione avviene sempre più lentamente. Alla cuticola dell'epitelio più sottile è da attribuirsi secondo GILCHRIST la maggiore suscettibilità di alcune varietà di pisello all'*Ascochyta pisi* che dà luogo al marciume pedale di queste piante.

HURSH attribuisce oltre che a particolarità specifiche del protoplasma anche a resistenze meccaniche, la possibilità di difesa delle piante di frumento alla *Puccinia graminis tritici*. Il numero dei peli sulle foglie, la struttura del clorenchima, il numero degli stomi, i movimenti delle cellule stomatiche che reagiscono diversamente agli stimoli esterni, sono tutti fattori che in casi particolari possono anche ostacolare la penetrazione dei tubi germinativi del parassita.

Ho già detto come l'immunità meccanica sia stata considerata da vari autori come immunità passiva, il VAVILOV anzi, propende a considerarla non come una forma di immunità, ma semplicemente come una condizione particolare per la quale le piante resistenti sfuggono all'infezione. Basta infatti rimuovere gli ostacoli meccanici perchè il parassita invada i tessuti. Questo fatto è particolarmente rilevabile nei frutti, i quali per quanto si debbano riguardare come organi vivi, hanno in genere i tessuti che esplicano una minore reazione agli stimoli. Un ceppo di penicillio riferibile alla specie collettiva *Pen. glaucum* sperimentato da NOBÉCOURT, non penetrava attraverso la cuticola di frutti di pomodoro, ma attraverso piccole rotture della medesima poteva invadere e rapidamente distruggere i tessuti.

MELANDER e CRAIGIE hanno voluto constatare sperimentalmente il valore dello spessore della cuticola nella difesa di alcune varietà di *Berberis* più o meno resistenti alla *Puccinia graminis*. Essi hanno misurato le cuticole ed hanno constatato che le varietà resistenti avevano la cuticola più spessa delle recettive, tuttavia un certo numero di varietà a cuticola sottile e poco solida resisteva egualmente bene. Altri fattori dunque, debbono intervenire nel conferimento dell'immunità.

Non mi pare giustificato il criterio di VAVILOV, di non considerare come immunità la resistenza meccanica, solo perchè essa non deriva da rapporti fisiologici tra il parassita e l'ospite, dato il criterio generico di difesa naturale che attribuisco alla immunità congenita, ma certamente il valore e la portata della immunità meccanica è ben lungi dall'essere generale, o per lo meno di larga applicazione.

Come fu dimostrato da ERIKSSON, HENNING, MARSHALL WARD, VAVILOV, ecc., l'immunità meccanica si verifica in casi limitati e nessun fatto ad essa riferibile si può constatare in molti casi di piante resistenti alle malattie; per esempio nell'immunità di alcune varietà di cereali alle ruggini (eccettuati quelli studiati da HURSH), ed all'oidio.

§ 5. – AZIONE DIFENSIVA DI SOSTANZE CONTENUTE NEI SUCCHI VEGETALI NORMALI.

Quando le barriere meccaniche non impediscono ai parassiti di giungere entro i tessuti fino a contatto con le pareti cellulari, non per questo si realizzano le condizioni necessarie perchè la pianta ammali.

Nei tessuti normali possono trovarsi sostanze diverse, più o meno nocive per il parassita, tanto da poterne arrestare lo sviluppo, od altre invece che lo favoriscono. Nel primo caso l'immunità risulta dai rapporti biochimici, sopratutto di natura enzimatica, che intercorrono tra il parassita e l'ospite, e viene denominata da vari autori immunità fisiologica. Nel secondo si ha la malattia.

Fra le sostanze che possono inibire l'attecchimento dei parassiti nei tessuti, vi sono gli acidi organici che sono più o meno diffusi in tutti i succhi vegetali. In alcuni casi è abbastanza evidente come la reazione acida possa preservare i tessuti di determinati organi ed è facilmente dimostrabile. Il *B. carotovorus* infetta facilmente i frutti di pomodoro, ma non attacca quelli di arancio e limone. NOBÉCOURT ha visto che i succhi di questi frutti, spremuti sterilmente, inibiscono in vitro la crescita del *B. carotovorus* sia lasciati tali che portati all'ebollizione, come lo inibiscono delle soluzioni sterili di acido citrico alla medesima concentrazione acida di quella titolata negli estratti di frutti. COMES fin dal 1900 raccolse una vasta casistica di piante resistenti nelle quali egli interpretava l'immunità come dovuta all'acidità dei succhi ed alla povertà di zuccheri. Egli, anzi, formulò un principio generale secondo cui la recettività maggiore si avrebbe negli organi più ricchi di zucchero e di composti ammidici, mentre gli acidi liberi costituirebbero la principale difesa contro i parassiti. Specificamente, l'acido tannico agirebbe contro le crittogame e l'acido malico contro gli insetti. Di conseguenza, il potassio, il calcio, il ferro, il magnesio, assorbiti dalle radici, aumenterebbero la resistenza aumentando l'acidità degli organi. AVERNA-SACCÀ, BUTLER, DEGLI ATTI, LO PRIORE, SCURTI e SICCA, hanno portato il loro contributo di osservazioni in questa direzione. KIRCHNER, nel 1916 esaminò sei varietà di frumento confrontando la resistenza alla *Puccinia glumarum* con il grado di acidità degli estratti, venendo alla constatazione di un certo parallelismo fra i due fenomeni. PANTANELLI nel 1921 studiando pure la resistenza del frumento, avena, e fave contro le *Puccinie* viene alla conclusione che insieme ad altri fattori, la presenza di acidi organici liberi a piccola molecola aumenti la resistenza, mentre quelli a molecola più grande, insieme agli zuccheri ed ai sali solubili di fosforo e di azoto, diminuiscono la resistenza. Ma il valore dell'acidità come fattore di resistenza ha esso pure una quantità di casi che ne limita di molto la portata generale. VAVILOV esaminando nei particolari la teoria di COMES la trova applicabile ad una quantità limitata di casi e ne mette in evidenza molti altri che le sono nettamente contrari.

Molte piante come i *Rumex, Oxalis, Berberis*, ecc., che sono caratterizzate da una forte quantità di acido nelle loro cellule, sono egualmente suscettibili a molti parassiti. L'esame di molte varietà di avena, frumento, rose, differenti nel loro grado di recettività rispetto alle ruggini ed al golpe, dimostra che non c'è nessuna precisa connessione fra immunità e quantità di acidi nelle foglie, anzi talune varietà di *Avena brevis, Avena strigosa, Avena bizantina* resistenti alla ruggine, al golpe ed allo sperone non differiscono per quantità di acido contenuto nelle foglie dalle varietà suscettibilissime.

La rosa centifoglie è molto suscettibile alla ruggine nonostante l'alta percentuale di acidi nel succo delle sue foglie. WILLE partendo dalla constatazione che il succo delle foglie delle viti presenta alla fine di maggio un minimo di acidità suppose che vi fosse un nesso con l'attacco della peronospora, esaminando però svariati vitigni di varia resistenza alla peronospora vegetanti nello stesso ambiente vide che non vi era nessuna relazione tra la recettività e i minimi di acidità che erano diversi in ciascun vitigno.

Ricerche anche recenti eseguite con grande accuratezza e nelle quali si teneva conto della acidità reale espressa in pH mettono in rilievo la mancanza di parallelismo tra resistenza ed acidità. HURSH nel 1924 studiò un notevole gruppo di varietà di frumenti diversamente suscettibili alle ruggini. Riporto alcuni dati della sua memoria; essendo 100 il massimo grado di suscettibilità ottenne:

Varietà	Khapli	suscettibilità	%	2,2	pH	del	succo	5,984
»	Kosa	»	»	40,1	pH	»	»	6,06
»	Marquis	»	»	60,8	pH	»	»	5,97
»	Little Club	»	»	88,4	pH	»	»	5,89

I valori del pH sono tutti quanti entro i limiti degli errori di determinazione, mentre la resistenza dei vari frumenti è stata enormemente diversa, per quanto tutti fossero coltivati nello stesso ambiente. Hurd-Karrer nel 1927 studiando l'uguale fenomeno arrivò a risultati ancora più decisivi, infatti ebbe dati acidimetrici più alti per le varietà meno resistenti e viceversa.

Analogamente ricerche fatte da Paris, Arrhenius, Bygden, A. M. Hurd e dalla Stazione Agraria del Minnesota hanno dato risultati che limitano notevolmente la portata della teoria di Comes.

Per quanto di valore limitato a singoli casi, tuttavia pare, secondo il Comes, che i pigmenti antocianici possano avere una certa influenza nella resistenza, e ciò si dovrebbe al fatto che queste sostanze derivano da corpi dotati di forte potere osmotico. Questa interpretazione dell'azione difensiva delle antocianine si collega con le osservazioni di Laurent, Senn, Hagler, Mac Dougal, Rivera, Draghetti ed altri AA. i quali ritengono che un'alta pressione osmotica dei succhi cellulari delle piante ospiti rappresenti un fattore di immunità, poichè si sarebbe stabilito che i parassiti hanno una pressione osmotica minore. Vavilov determinò con il metodo plasmatico la pressione osmotica del succo di varietà di frumenti resistenti e suscettibili non trovandovi differenze. Ad eguali risultati sono pervenuti Hursh, Pantanelli, Tischler ed altri AA.

Iniziando questo paragrafo, affermavo che la penetrazione di un parassita entro i tessuti delle piante ospiti non si può considerare come malattia in atto. Fra i parassiti e le cellule ospiti si possono stabilire dei rapporti simbiotici, anche nel caso che il parassita non venga respinto ed ucciso, che vanno dal semplice commensalismo e mutualismo, per gradi insensibili e malamente scindibili fra di loro, fino al parassitismo propriamente detto. Richiamo ora questo concetto per spiegarci meglio il valore di un notevole gruppo di esperienze fatte da Stahl, Reinhardt, Büsgen, Miyosi ed altri AA. ma sopratutto da Massee sull'azione di determinate sostanze contenute nei succhi vegetali, specialmente zuccheri. Queste sostanze eserciterebbero un'azione chemiotattica positiva sui funghi parassiti in modo che favorirebbero la loro penetrazione nei tessuti. Il MASSEE, anzi, sarebbe riuscito a rendere patogeno per le foglie di begonia il *Trichothecium candidum* in dodici generazioni di passaggi successivi su foglie di begonia iniettate con soluzioni zuccherine al 2%.

Le esperienze in vivo si fermano però quasi tutte alla fase della penetrazione che, come è stato dimostrato da Miss GIPSON e poi da Miss RUTH F. ALLEN per le uredinee, non è che un primo stadio verso l'infezione il quale però avviene anche nelle varietà resistenti nelle quali si arresta con un meccanismo di cui ci occuperemo in seguito. SALMON e MARRYAT mediante studi citologici arrivano a conclusioni analoghe. FULTON, BROWN e VAVILOV sono egualmente contrari all'ipotesi di MASSEE. Anche le più recenti esperienze di SCHMIDT, che operò con una *Phyllosticta* su sacchi di collodio contenenti sostanze nutritive (i quali venivano invasi esternamente e perforati dal micelio del fungo vegetante a qualche distanza) non mi pare aggiungano nulla di più probante alla ipotesi di MASSEE.

Esperienze assai più convincenti sono quelle di PETRI fatte nello stesso tempo. Avendo scelto alcune graminacee resistenti alla *Sclerotinia libertiana,* PETRI aumentava gli stimoli chemiotropici dei tessuti fogliari con l'aggiunta di sostanze chemiotattiche senza ledere i tessuti medesimi. Dopo questo trattamento, egli constatava la penetrazione della *Sclerotinia,* non solo, ma le caratteristiche lesioni prodotte dal fungo; osservava, in altre parole, lo stadio di malattia. Il PETRI conclude perciò che l'immunità naturale delle piante è legata alla mancanza nei succhi vegetali di sostanze stimolanti chemiotropicamente in modo da favorire l'attecchimento del fungo e la sua produzione di enzimi citolitici agenti sui tessuti.

Gli alcaloidi presenti in molte piante pare non abbiano nessuna azione difensiva. Esperienze fatte in vitro da NOBÉCOURT con nicotina, atropina, chinina, aconitina, in dosi assai superiori a quelle contenute nelle foglie delle piante rispettive produttrici, non hanno avuto nessuna azione sulla *Botrytis cinerea.* Ad eguale conclusione giunge il medesimo A. circa un'eventuale azione degli olii essenziali che pure esplicano un'azione antisettica *in vitro.*

Secondo Salmon la resistenza di alcune varietà di frumento all'*Erysiphe graminis* sarebbe legata a particolari sostanze specifiche preformate nelle cellule epidermiche. Quando, in seguito a ferite, le pareti cellulari sono rotte, queste sostanze andrebbero perdute ed allora il parassita potrebbe attecchire, non solo, ma anche penetrare nel mesofillo e vivervi come endoparassita.

A particolari sostanze preformate è da attribuire probabilmente l'azione tossica delle cellule di patate resistenti sul micelio del *Synchytrium endobioticum*, descritto da Cartwright, le cui zoospore possono bensí penetrare nelle cellule epidermiche come nelle varietà suscettibili ma senza che l'infezione abbia luogo.

Wagner, ispirandosi evidentemente alla immunologia animale, suppose che il succo normale delle piante contenesse tre categorie di sostanze antibatteriche: l'agglutinina che impedirebbe il movimento delle ciglia, la lisina che scioglierebbe le membrane dei miceli, ed altre sostanze che dovrebbero impedire la germinazione delle spore. Nelle sue ricerche il Wagner, determinò per cosí dire, le dosi minime letali di *B. vulgatus*, *B. putidum*, *B. asterosporus* per i tuberi e i fusti di patate, di barbabietole da zucchero, di *Sempervivum Haussmani*, *Sinapis alba* e *Brassica oleofera*. Iniettando quantità minori del minimo si aveva la morte dei microbi con o senza malattia della pianta; aumentando invece la dose dei germi si aveva la morte della pianta ospite con moltiplicazione dei germi. Avendo cosí constatato un potere germicida dei succhi, egli volle dimostrarne l'esistenza *in vitro*; a questo fine saggiò i liquidi ottenuti per pressione dalle piante e filtrati per candela Berkefeld, sull'accrescimento dei germi che erano coltivati in brodo della stessa acidità dei succhi. Sia esaminando i germi in goccia pendente, sia per mezzo della conta delle colonie in piastre, potè dimostrare che il succo di patata e quello di semprevivo avevano un potere battericida, agglutinante e batteriolitico che mancava invece al succo di barbabietola.

Mediante precipitazione dei succhi con solfato ammonico e ridissoluzione del precipitato ben lavato, Wagner dimostrò inoltre come il fattore battericida sia legato alla parte proteica del succo e sia termolabile (due ore a 45° C., e 15 minuti a 60° C.) e distruttibile dalla luce, dalle ossidasi e perossidasi.

Il succo delle scaglie carnose dei bulbi di cipolle, specialmente se giovani, conterrebbe secondo WALKER, LINDEGREN e BACHMANN delle tossine le quali avrebbero un'azione sopra i parassiti delle cipolle, tale da poter esercitare un'azione ritardatrice ed inibitrice durante l'invasione del micelio parassita. La BENIGNI ha osservato che nell'estratto di giovani piantine di mais le spore dell'*Ustilago maydis* germinano solo se le piante sono suscettibili alla infezione e non germinano se le piantine sono resistenti.

Anche NOBÉCOURT ha studiato se i succhi di piante o di frutti resistenti a determinate muffe avessero un'azione fungicida, o per lo meno nociva alla germinazione delle spore ed all'accrescimento dei miceli. A questo scopo esaminò i succhi di frutta carnose come pere, mele, pesche, pomidoro contro *Stysanus stemonitis*, *Acrostalagmus cinnabarinus*, *Cephalothecium roseum*; succhi di lattuga, fave, carote, *Opuntia* contro *Penicillium glaucum*, *Mucor stolonifer*, *Monilia fructigena*; e diverse altre specie di piante e muffe, ma giunse a conclusioni negative.

Interessanti risultati, che meriterebbero di essere ripresi e maggiormente affinati ebbe lo stesso NOBÉCOURT, studiando l'azione antitossica dei succhi di piante resistenti a determinati parassiti, contro i prodotti tossici dei parassiti stessi. Coltivando su terreni liquidi artificiali la *Sclerotinia libertiana* il liquido di coltura assume proprietà disgregatrici per i tessuti di *Opuntia* e di carote. Aggiungendo a parti eguali un estratto di *Opuntia* con il liquido di coltura, l'azione disgregatrice diviene 12 volte meno forte rispetto al controllo dato dal liquido di coltura aggiunto della stessa quantità di acqua. L'estratto di carote invece ha un'azione, diciamo cosí, antitossica appena sensibile; il risultato è maggiormente interessante se si tiene presente che la carota è molto suscettibile alla *Sclerotinia libertiana*, mentre l'*Opuntia* è assolutamente refrattaria.

NOBÉCOURT ha esteso ad altre coppie di piante e parassiti la sua ricerca giungendo a risultati non sempre cosí nettamente concordanti nel parallelismo fra il potere antitossico, che pare coctostabile, e la refrattarietà; tuttavia l'orientamento di queste ricerche rappresenta una nuova veduta nella interpretazione della immunità congenita.

In via di pura ipotesi interpretativa ricordo in questo paragrafo le singolari proprietà dei succhi normali delle piante che furono messe in evidenza ed in parte studiate da CARBONE e VIGLIANO e da me e da noi denominate pseudo-anticorpi. Di essi sarà detto più particolarmente in altro capitolo. La presenza, distribuzione e sopratutto la costanza e la specificità di tutte queste reazioni sono estremamente variabili, tuttavia non ci pare escludibile *a priori* che queste proprietà, le quali sembrano abbastanza diffuse fra le piante, possano rappresentare un lato rivelabile *in vitro*, di attività difensive dei succhi vegetali cellulari e circolanti.

§ 6. – REAZIONI ISTOGENE ED UMORALI DEI TESSUTI VEGETALI PARASSITATI.

Gli scambievoli rapporti fra parassiti e tessuti parassitati sono differenti nelle svariate malattie delle piante ed in generale possiamo osservare che essi dipendono più dalla natura del parassita che della pianta ospite. Se noi consideriamo il binomio parassita-ospite come una particolare forma di simbiosi nella quale i due individui tendono a sopraffarsi, possiamo osservare svariatissimi gradi nella intimità della associazione. Nel caso più semplice il parassita vive alla superficie delle foglie, non inviando nessun organo di succhiamento nei tessuti ospiti, e danneggia la pianta oltre che deturpandola, sottraendole luce e alterandone le funzioni traspiratorie. È il caso delle *Perisporiacee* che oltre al genere *Fumago* comprende generi più saprofiti che parassiti. Altri parassiti come l'*Oidium Tuckeri* pur vivendo alla superficie delle foglie mandano organi di assorbimento di varia forma entro i tessuti fogliari. Passando per gradi ai parassiti che penetrano negli spazi intercellulari e vivono dei succhi diffusi dalle cellule, si arriva a quelli che pur restando intercellulari spingono degli austori nell'interno delle cellule a succhiarvi il nutrimento, come nel tipico caso della *Plasmopara viticola*. Infine abbiamo parassiti che attraversando le pareti cellulari in tutti i sensi, come nei *Fomes*, penetrano le cellule stesse.

Parallelamente a questi gradi di simbiosi anatomica abbiamo gradi diversi di simbiosi fisiologica che sono legati alla produzione da parte dei parassiti, di quantità variabili di sostanze tossiche diverse, probabilmente dell'ordine degli enzimi e da parte delle piante ospiti di reazioni istogene ed umorali che tendono a frenare l'invasione infettiva. È questo difficile campo di studi microchimici ed istologici che ha già dato interessanti risultati nello studio della immunità congenita e che probabilmente ne potrà dare in avvenire.

Come conseguenza delle alterazioni fisiologiche portate dalle micosi parassitarie, si possono avere delle vere autoamputazioni consistenti nel distacco dalla pianta ammalata di foglie, fiori e rami fortemente invasi dal parassita; per questo mezzo la pianta se ne libera e diminuisce la possibilità del diffondersi dell'infezione. A parte queste reazioni, che potremmo chiamare macroscopiche, alla malattia, si possono osservare talune volte, neoformazioni di barriere fisiche o chimiche le quali contrastano la diffusione del parassita e possono anche arrestare l'infezione. Si osserva qualche cosa di simile a quello che in immunologia animale il BELFANTI denomina immunità di barriera (v. pag. 17).

Il protoplasma delle cellule attaccate reagirebbe in modo da determinare un ispessimento della membrana cellulare in corrispondenza del punto colpito dal micelio. Secondo GUTEMBERG, BRÜLLOWA, FISCHER quando il micelio di talune muffe è penetrato nelle cellule, verrebbe arrestato da una sorta di guaina che il protoplasma gli produrrebbe attorno, per modo che la sua diffusione nella cellula ne sarebbe impedita. PANTANELLI ha notato qualche cosa di simile nella peronospora della vite. La penetrazione dell'austorio attraverso le pareti cellulari attaccate provoca il distacco del protoplasto ed una secrezione di uno strato di callosa che incapsula l'austorio. MANZONI in piante di trifoglio affette da incappucciamento, descrive una batteriosi delle radici nella quale le cellule circostanti la zona invasa, suddividendosi in forma concentrica sotto l'eccitazione della infezione, entrano in proliferazione anormale in modo da creare un tessuto di neoformazione avente i caratteri di meristema secondario che isola la parte malata dal rimanente xilema. Un fatto analogo ha studiato VAN DER WOLK in una batteriosi di *Arachis hypogæa*. Studiando la cicatrizzazione nei tuberi di patata, e l'azione di agenti esterni su di essi, MONTEMARTINI ha osservato che seminando sulla superficie di taglio di un tubero diviso a metà, delle spore di *Penicillium glaucum* e tenendo tutto in camera umida insieme alla metà di controllo, la superficie coperta dai germi annerisce prima dell'altra e dopo 3 giorni presenta un processo di segmentazione cellulare più distinto e più generale, accompagnato da una suberificazione delle membrane cellulari più evidente che nel controllo. Questo eccitamento alla suberificazione in dipendenza sia pure di germi non patogeni, rappresenta indubbiamente un fatto difensivo.

L'azione eccitante dei parassiti sulle piante si manifesta diversamente sulle loro varie funzioni. MONTEMARTINI dimostrò che tale azione eccitante è più intensa per la funzione respiratoria che per la assimilazione clorofilliana; ma quest'ultima viene più fortemente e lungamente eccitata dagli *Aecidium* ed in genere dalle Uredinee. Lo stesso autore notò che l'*Uncinula aceris* la quale normalmente è un ectofita delle foglie dell'acero, con l'abbassarsi della temperatura nella stagione invernale, in seguito alla diminuita resistenza della pianta, diviene endofita, invade il mesofillo fogliare eccitandolo nelle sue funzioni, in guisa da realizzare una vera simbiosi mutualista, per quanto temporanea, finchè durano le condizioni di temperatura e di umidità che l'hanno provocata.

Anche recentemente il MARQUER ha richiamato l'attenzione sopra la persistenza dei cloroplasti nelle aree parassitate delle foglie autunnali, e da comunicazione diretta, so che il MONTEMARTINI sta studiando un analogo fenomeno in foglie di Agave.

Sotto l'influenza eccitatrice del parassita e delle sue sostanze tossiche si ha nelle foglie attaccate un innalzamento della temperatura, fenomeno analogo alla reazione febbrile degli animali. Questo fenomeno venne studiato dal PAVARINO il quale mise anche in evidenza come il peso della sostanza secca delle foglie ammalate sia minore di quello delle sane.

Una tecnica che presumibilmente dovrebbe dare buoni frutti in questi studi sulle reazioni istogene ai parassiti, è quella della cultura dei tessuti *in vitro*. CARBONE nel 1922 la preconizzava nelle ricerche sull'immunità dei vegetali, e nel 1923 in esperienze rimaste inedite riuscí a coltivare sterilmente in provette di agar malto inclinato degli embrioni di fave privati di cotiledoni. Anch'io ho fatto qualche tentativo preliminare in questo campo e le ricerche continuano tuttora. Dirò solo che sono riuscito a mantenere in vita per circa un mese delle sottili sezioni sterili di giovani fusti di ricino. Per ottenere la sterilità delle sezioni, immergevo per due minuti il pezzo di ricino in acqua ossigenata e dopo prolungato lavaggio con acqua sterile lo portavo in una scatola Petri entro la quale, con le precauzioni del caso, eseguivo il taglio delle sezioni con ferri sterili. Le sezioni cosí ottenute erano deposte su una goccia di agar al liquido di Knop, entro la cavità di un vetrino porta oggetti per goccia pendente, che coprivo immediatamente con un vetrino copri oggetti tenuto fermo mediante vaselina nella parte a contatto con il porta oggetti e con paraffina ai bordi esterni. Con tale tecnica si può agevolmente osservare al microscopio la sezione, e penso si possano eventualmente seguire le fasi di una simbiosi o di una infezione e le relative reazioni cellulari, aiutandosi eventualmente con colorazioni vitali.

Una forma particolare di reazione istogena macroscopica, si ha in molte piante con neoformazioni di ipertrofie e mostruosità che in passato venivano interpretate come forme teratologiche dovute ad arresti di sviluppo od attribuite a misteriose cause ignote. Nel gruppo degli *Exoaschi* abbiamo una serie di funghi che altera singolarmente le foglie, i fiori ed i frutti attaccati. PEGLION ha mostrato come molti casi di viriscenze e di ipertrofie nelle graminacee siano prodotti dalla *Sclerospora graminicola*. Ma più tipiche ancora sono quelle neoformazioni prodotte dalla puntura degli insetti e qualche volta pure da parassiti vegetali che sono denominate cecidî. In questi casi la reazione della pianta assume forme di alto interesse morfologico poichè molte volte si giunge a realizzare condizioni favorevoli di vita per il parassita e per la pianta, come nelle galle.

Già il nostro MALPIGHI, che per primo studiò queste importanti formazioni, nel suo « De Gallis » suppone che la neoformazione sia dovuta all'azione chimica di ignote sostanze introdotte mediante la puntura dagli insetti negli organi sani. Ma questa geniale intuizione non è stata capita dai morfologi che in seguito si occuparono dell'argomento. Il CUBONI in una sua acutissima rivista critica sulle galle — che si fa ancora leggere con viva attenzione a trent'anni dalla pubblicazione — espone l'interpretazione che ne danno SACHS e BEYERINCK, la quale è singolarmente interessante anche dal nostro punto di vista.

L'accrescimento normale delle piante e la formazione di organi nuovi procederebbe da sostanze fluide, diffusibili, dotate di un potere organogenetico specifico, le quali sostanze, elaborate dalle foglie, sarebbero poi portate nei focolari formativi embrionali. Nel caso normale di accrescimento, le sostanze formative sono opera del protoplasma della pianta stessa, nel caso dei cecidi invece, sarebbero portate dai parassiti esterni nei tessuti della pianta. Sotto l'influenza di questi, e come risultato dell'antagonismo fra le sostanze formative naturali e parassitarie, le cellule dell'ospite subirebbero un nuovo orientamento nella loro suddivisione e forma, in modo da costituire quelle barriere cellulari che isolano il parassita anche se gli creano delle condizioni di vita favorevoli.

È chiaro come queste supposte sostanze formative od enzimi di accrescimento ricordino le sostanze elaborate dalle ghiandole endocrine degli animali, ma a differenza di queste seconde, ormai ben note, gli enzimi di accrescimento vegetali sono per ora solo una ipotesi, la quale ha però il merito, dice il CUBONI « di sostituire un concetto chiaro, preciso, intelligibile al mistico principio della *virtù formativa della forza ereditaria*, sotto le quali parole in fondo i naturalisti non facevano altro che cercare di nascondere la loro ignoranza ».

Su un ordine di idee che ha dell'analogia con le teorie di BEYERINCK e SACHS sono gli studi sperimentali dell'HABERLANDT il quale ha mostrato come nei tessuti vegetali siano contenuti dei principî blastici che per la loro evidenza, afferma il CENTANNI, hanno avuto un vivo riflesso negli studi sugli analoghi fenomeni dell'organismo animale. Se si recide con un taglio netto un ramoscello, si nota come la ferita rimargini assai più lentamente che se si depone su di essa una poltiglietta formata dai detriti della parte recisa, o del succo ottenuto spremendola. Un fenomeno analogo ho osservato io pure. Lavando con un sottile getto di acqua distillata delle fette di tuberi di patate potei notare come la suberificazione si facesse più lenta e senza imbrunimento della superficie. Nelle cellule vegetali si troverebbe adunque, secondo HABERLANDT, un principio stimolante la riparazione delle ferite che egli denomina *ormone di disintegrazione* in quanto agisce in seguito alla rottura delle cellule e che certamente ha una parte attiva nella difesa delle piante, se non altro in quanto una rapida cicatrizzazione delle ferite, impedisce o rallenta la possibilità di penetrazione di parassiti nei tessuti.

D'altro canto la esistenza di ormoni nei vegetali, dopo i più recenti lavori ai quali hanno portato un contributo notevole BORZÌ, BUSCAGLIONE, CALESTANI, LO PRIORE e sopratutto RICCA, con i suoi studi sulla propagazione degli stimoli nelle sensitive, non può più essere messa in dubbio (CAVARA). Se i tentativi per dimostrare la presenza degli enzimi formativi non hanno dato risultati definitivi non dobbiamo meravigliarci. Nelle piante non abbiamo, o meglio non conosciamo, come negli animali, tessuti ed organi devoluti ad una speciale elaborazione di umori regolatori dell'accrescimento; se gli eventuali enzimi di accrescimento sono elaborati dal protoplasma delle singole cellule contemporaneamente alle svariatissime altre attività biochimiche, è evidente quanto sia più difficile il tentarne l'isolamento senza alterarli profondamente. Ma se noi annettiamo con il CUBONI un valore di probabilità alla teoria di SACHS e BEYERINCK — e non ci pare cosa azzardata dopo i fatti sopra ricordati, — anche quelle reazioni istogene ed umorali che i vegetali danno ai parassiti fungini senza che tuttavia assumano le proporzioni macroscopiche dei cecidi, sono illuminate da una nuova luce che ci aiuta nel nostro sforzo d'interpretazione della immunità congenita.

La reazione dei tessuti parassitati può presentarsi talvolta con secrezione di particolari sostanze come tannini, gomme, pigmenti, cristalli di ignota natura.

CARBONE ed io abbiamo osservato una reazione pigmentaria su fette di patata infettate con germi patogeni o banali. Una zona rosso bruna si formava al limite fra la porzione infetta e quella sana, e quando l'infezione si estendeva, non di rado tale zona appariva come erosa. Abbiamo già visto come anche MONTEMARTINI abbia osservato un imbrunimento più rapido sulle fette di patata infettate con *Penicillium glaucum*. Ha questa reazione un rapporto con le macchie brune sulle foglie che quasi sempre accompagnano le infezioni fungine? E rappresenta essa una reazione difensiva o almeno un epifenomeno di una reazione che non conosciamo ancora? Questa supposizione venne già affacciata molti anni fa dal CARBONE il quale avendo constatato come questi pigmenti bruni e insolubili in acqua si formino solo in seguito ad azioni traumatiche e nella parte di tessuto che viene a contatto con l'atmosfera, attribuiva loro una funzione protettiva.

Altre volte l'arresto del parassita pare essere connesso a cristalli di ignota natura che formano una barriera attorno all'ifa invaditrice.

TOBLER vide accumularsi dei cristalli nelle cellule a nucleo degenerato della *Zamioculcas zamifolia*, intorno agli sporangi maturi del *Phyllosiphon asteriforme* e VAN DER WOLK in piante di atreplice, la cui radice era invasa da una muffa, osservò nel tessuto infetto all'inizio della malattia una diminuzione dei cristalli normali in tali piante, ma poi con la guarigione vide formarsi attorno all'apice dell'ifa un deposito sempre più abbondante di piccoli cristalli che finivano per imbrigliare l'ifa circondandola da ogni parte.

Nel corso di questo capitolo ho già avuto occasione varie volte di accennare alla simbiosi ed alla malattia come a due aspetti particolari di un processo più generale comprendente fenomeni di convivenza fra organismi di specie diversa; ora è necessario esaminare più particolarmente questo concetto.

Solitamente quando si considerano casi di organismi superiori invasi da germi, si suole fare una distinzione netta fra malattia e simbiosi. Si avrebbe il primo fenomeno quando il germe è nocivo, il secondo quando è indifferente o vantaggioso per l'ospite. In realtà questa distinzione è piuttosto artificiosa: in natura non si ha una così netta differenza, viceversa si possono osservare varie gradazioni dovute alla specie dei conviventi oltre che variazioni contingenti per influenza di cause esterne che si riflettono sulla mutevole reattività dell'ospite e virulenza del parassita (CARBONE, QUARELLA, VENTURELLI). E come una forma speciale di questa gradazione nella convivenza fra ospite e parassita si hanno anche casi che hanno il rispettivo riscontro in zoopatologia con i così detti portatori sani, nei quali i parassiti vivono entro la pianta ospite e pur essendo virulenti non le recano alcun danno. Tali alcuni protozoi parassiti dei vasi laticiferi di certe euforbie (FRANCHINI).

La simbiosi sarebbe per ciò un caso di equilibrio, più o meno stabile fra parassita ed ospite, che il BERNARD dice essere « *à la frontière de la maladie* ». Questo stato d'equilibrio infatti, è raggiunto mediante azioni e reazioni fra i due organismi e differisce dalla malattia solo per gradi di intensità e per il risultato finale. Considerato da questo punto di vista, lo studio della simbiosi fra microrganismi e piante, acquista una grande importanza per lo studio dell'immunità.

Questo modo di vedere ed i primi studi secondo questo indirizzo sono opera di NÖEL BERNARD, le cui ricerche furono poi continuate dalla Signora BERNARD, quindi riprese ed estese sopratutto da MAGROU e NOBÉCOURT. Volutamente le tratto per ultime in questo paragrafo, poichè si debbono esaminare più attentamente data la importanza ch'esse hanno come reazioni istogene e umorali e per l'interesse che le lega alla immunità acquisita.

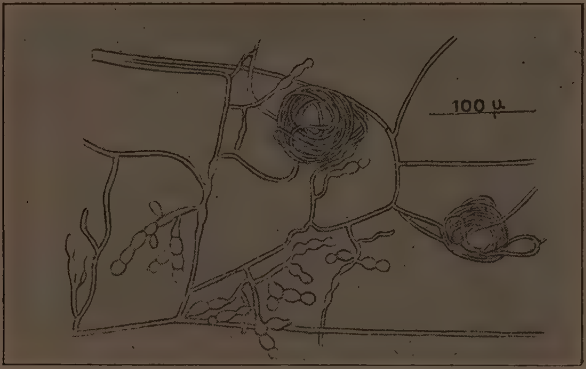


Fig. 11 – *Rhizoctonia repens* sviluppata in cultura pura con formazione dei gomitoli di micelio (da BERNARD).

Nelle radici delle orchidee si trovano quasi costantemente delle muffe endofite, le cosìdette micorize che penetrano nella pianta fin dai primi stadi di sviluppo, poichè i semi non possono germinare se non sono infettati dalla rispettiva rizoctonia. Se si infettano semi di una determinata specie di orchidee con rizoctonie diverse, la massima parte di essi viene invasa dal parassita, ma come BERNARD ha rilevato, mentre alcuni embrioni sono invasi e distrutti dal micelio senza che vi sia una reazione visibile, altri reagiscono e distruggono il micelio invadente con un meccanismo di cui ci si occuperà subito; in un terzo caso si osserva ancora una reazione da parte delle cellule embrionali, ma meno vivace, sì da permettere ancora la vita del fungo il quale però è per così dire tenuto a freno da reazioni istogene ed umorali onde può realizzarsi la simbiosi.

L'ifa della rizoctonia, attraverso la zona senza cuticola orientata verso il micropilo dell'embrione, che pare essere il punto elettivo di attrazione, penetra nel tessuto dell'embrione del seme; allora assume un modo di vegetazione atto a rallentarne la diffusione. Essa si aggomitola nelle cellule, invece di proseguire in maniera più o meno rettilinea, ed in queste condizioni rimane un tempo più o meno lungo a seconda se fra la rizoctonia in questione e l'orchidea si avranno dei rapporti che porteranno alla distruzione del parassita, o della pianta, od alla simbiosi (fig. 12). La ragione di questo aggomitolamento non è ancora chiara; secondo Bernard essa si può paragonare alla agglutinazione degli schizomiceti per opera degli

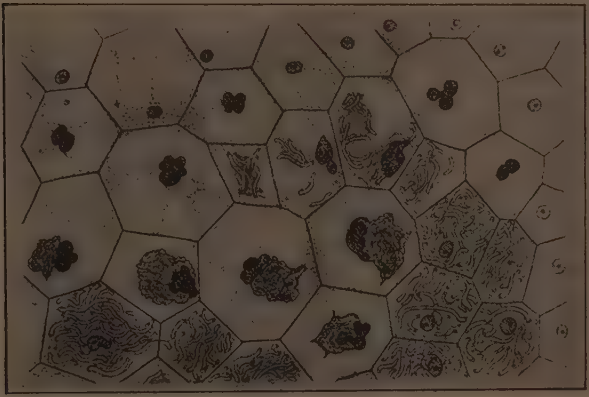


Fig. 12 – Parte anteriore della regione infetta di una piantina di *Phalaenopsis*. Cellule con vari stadi di fagocitosi: (in alto) cellule sane, alcune presentano già i nuclei deformati; (in mezzo) cellule nelle quali si inizia la fagocitosi; (a destra) cellule con nucleo normale nelle quali la fagocitosi non è avvenuta (da Bernard).

umori animali, e sarebbe da attribuirsi a particolari proprietà agglutinanti dei liquidi cellulari delle orchidee. Nelle orchidee resistenti alla rizoctonia, si ha in un secondo tempo un processo di distruzione del gomitolo di micelio. Il nucleo cellulare si ipertrofizza e prende talvolta forme ameboidi complesse, formando delle digitazioni che si insinuano fra le anfrattuosità dei gomitoli miceliari i quali poco alla volta degenerano prima nella parte centrale, e poi in tutta la massa, onde si ha un complesso amorfo che rimane aderente al nucleo il quale poco alla volta riprende, ma non sempre, la forma primitiva. Questo fenomeno, che è più diffuso di quanto si credeva, è stato studiato ed interpretato per la prima volta da DANGEARD e ARMAND come una digestione cellulare del micelio; in seguito MAGNUS lo ha dettagliatamente studiato dimostrando come non tutte le cellule delle orchidee siano dotate di nuclei ipertrofizzabili e di poteri digestivi, ma che sia alla periferia della zona invasa, sia nella massa stessa, persistono cellule che albergano i gomitoli di micelio senza digerirli. Nella *Neottia nidus-avis*, MAGNUS avrebbe notato che le cellule digerenti e quella a gomitolo erano pressappoco di uguale numero.

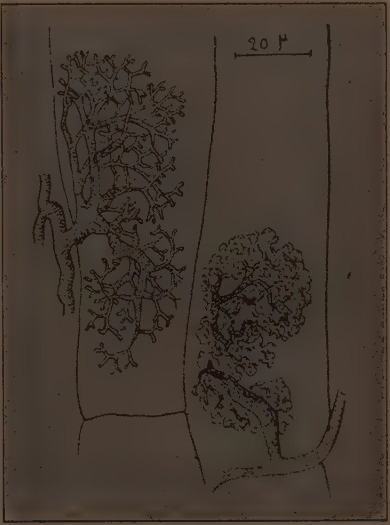


Fig. 13 – Cellule radicali di *Allium* invase da micelio ramificato. Nella cellula di destra l'arbuscolo di micelio comincia ad alterarsi e diviene incapace di progredire oltre (da GALLAUD).

Questa degenerazione del micelio aggomitolato è stata interpretata da alcuni autori come un fenomeno di autolisi, mentre secondo BERNARD deve intendersi come opera della attività cellulare dimostrata dalle deformazioni del nucleo, e dal fatto stesso che in quelle cellule ove non si ha una preventiva ipertrofia nucleare, non si ha digestione.

Janse aveva già descritto queste masserelle di micelio degenerate studiando 75 piante a micorize dell'isola di Giava, e Gallaud aveva considerato questo fenomeno come una fagocitosi, facendo egli pure notare come non tutte le cellule invase dal fungo avessero una reazione nucleare con conseguente digestione del gomitolo miceliare (vedi figura 14).

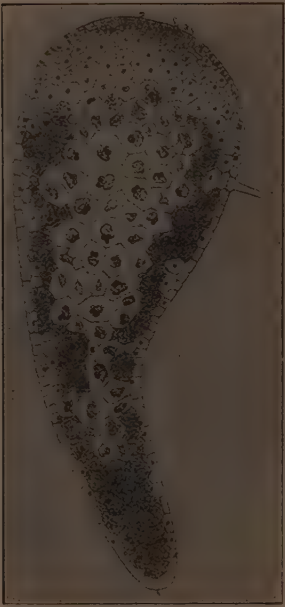


Fig. 14 – Sezione longitudinale di *Phalaenopsis*, dopo 50 giorni di sviluppo insieme alla *Rhizoctonia mucoroides*. Nelle cellule con micelio non digerito si distinguono i nuclei fagocitanti (da Bernard).

Naturalmente poichè nelle piante le cellule sono immobili non si può avere una fagocitosi mobile, tale da poter raggiungere ed inglobare i germi e neppure si può avere un inglobamento dei parassiti da parte delle cellule avendo esse le pareti rigide, ma quando il micelio invadente penetra entro la cellula come nei casi sopra citati, è sufficiente che il protoplasma possa digerire il parassita perchè si possa parlare di fagocitosi senza allontanarci dal concetto essenziale di questo fenomeno in zoopatologia. (v. pag. 16).

Nella *Psilotum triquetrum* una crittogama vascolare il cui rizoma è sempre infetto, Shibata ha messo in evidenza nelle cellule invase il micelio aggomitolato e fenomeni di digestione accompagnati o no da alterazioni ameboidi del nucleo.

Carbone, in bulbi di *Orchis morio* ha osservato postumi fagocitari perfettamente simili a quelli descritti da Bernard (fig. 15).

Magrou ha studiato l'infezione delle radici delle patate da parte di muffe endofite e ha riscontrato fenomeni assolutamente analoghi a quelli descritti da Bernard nelle orchidee e nella dulcamara. Anche nelle patate si hanno dei casi nei quali la reazione cellulare è così pronta e vivace da arrestare un'infezione ed altri invece più frequenti nei quali la fagocitosi non avviene in tutte le cellule, e si svolge più lentamente, per cui la pianta non può liberarsi completamente dal parassita e si stabilisce così la simbiosi (fig. 16 *A* e *B*).

In tutti questi casi l'infezione rimane però localizzata ad alcune parti ed organi. La fagocitosi non è più sufficiente a mantenere questa parziale immunità ed altre reazioni debbono intervenire. Bernard per primo mise in evidenza la esistenza di una resistenza umorale. Il modo anormale di sviluppo dell'endofita nella pianta sarebbe legato perciò alle proprietà umorali dei succhi, e il grado relativo di immunità della pianta si potrebbe paragonare all'immunità degli animali vaccinati. Sperimentalmente dimostrò come il succo dei tubercoli delle orchidee sia capace di distruggere gli endofiti di queste piante e come la sostanza fungicida sia specifica e coctolabile a 55° C. per 35′, abbia cioè proprietà analoghe agli anticorpi degli animali immunizzati. Questa esperienza è stata ripresa da

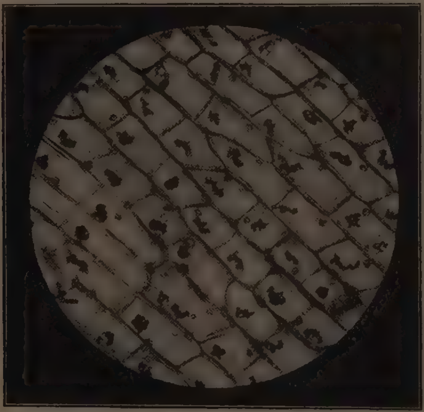


Fig. 15 – Epidermide di bulbo di *Orchis morio* con vari stadi di fagocitosi del micelio infettante.

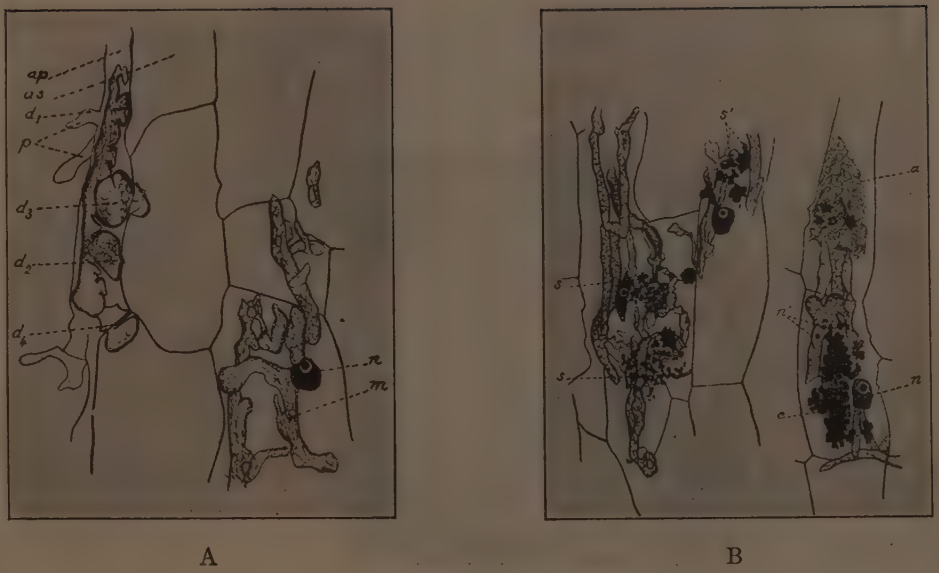


Fig. 16 – *A*, Sezione longitudinale di una radice di piantina di patata, durante la penetrazione del fungo. Si osserva il filamento miceliare che ha assunto una forma vescicolare con vari stadi ($d1$, $d2$, $d3$, $d4$) di penetrazione dei dischi adesivi; *n*, nucleo; *m*, micelio in sviluppo. – *B* (a sinistra) Sezione longitudinale in una radice di patata, con inizio della degenerazione del fungo; (a destra): idem. Si vedono in *c* corpuscoli voluminosi risultanti dalla fagocitosi del fungo (da Magrou).

Nobécourt: dei pezzi di tubero di *Loroglossum hircinum*, tagliati asetticamente, erano posti sul fondo di una provetta di agar inclinato sul quale era poi seminato l'*Orcheomyces psychodis*. La muffa cresceva bene i primi giorni nella parte superiore dell'agar, ma a contatto del pezzo di tubero i filamenti miceliari si arrestavano a circa ½ cm. Bernard, come si è giá detto, aveva prima dimostrato che scaldando a 55° C. per 35 minuti il pezzo di tubero, questo perdeva la proprietà di arrestare lo sviluppo del fungo ed interpretava il fatto come se la sostanza fungicida fosse stata distrutta dal calore.

Nobécourt supponendo invece che la sostanza venga secreta sotto l'azione del fungo, uccise dei pezzi di tubero non più con il calore ma con vapori di cloroformio e mediante l'azione del freddo a —15° C., ed ottenne gli stessi risultati e cioè il fungo non era più arrestato e in breve cresceva su tutto l'agar nonchè sopra il tassello di tubero. Non essendo probabile che l'azione dei vapori di cloroformio e quella del freddo possano distruggere la sostanza fungicida delle orchidee, Nobécourt ne conclude che essa non è preformata, ma viene elaborata e secreta sotto l'azione tossica del fungo. Magrou ha ripetuto lui pure queste esperienze ma non condivide le opinioni di Nobécourt, egli ritiene che la sostanza fungicida preesista nel tubero e lo dimostra con l'esperienza seguente: nei soliti tubi di agar inclinato mette dei pezzi di tubero di *Loroglossum*, li lascia per due settimane quindi li toglie e semina la *Rhizoctonia repens* sulla parte superiore dell'agar e nota come lo sviluppo sia minimo e solo nella parte di agar più lontana dalla zona ove era stato posto il pezzo di tubero. (fig. 17) Secondo Nobécourt possono interferire delle cause individuali, egli ammette che in alcuni casi la sostanza possa essere preformata, ma che nella maggioranza essa sia opera dell'eccitamento della muffa. Probabilmente la questione è essenzialmente quantitativa; è un fenomeno biologico generale che le cellule secernenti sostanze atte a determinati scopi fisiologici siano eccitate nella loro funzione sotto l'azione chimica o fisica della sostanza con la quale devono entrare in gioco. Si potrebbe pensare perciò in via di ipotesi, dato anche che l'azione della sostanza fungicida pare non essere sempre strettamente specifica, che essa possa preesistere in una certa quantità nelle cellule dei tuberi, e che sia eccitata la sua elaborazione e diffusione dall'azione tossica del fungo. La Comini ripetè queste ricerche con esito negativo.

Anche in casi nei quali il parassita essendo intercellulare non viene a contatto con il protoplasma, si sono osservati dei fatti che possono interpretarsi egualmente come reazioni istogene largamente difensive: tali quella descritta da Tobler nella cecidiogenesi dell'alga *Phyllosiphon asteriforme* in *Zamioculcas zamifolia*, nella quale il contatto fra il parassita e il tessuto della foglia spinge questo ad una vivace moltiplicazione, durante la quale i nuclei si spostano in direzione del parassita accollandosi alla parete della cellula

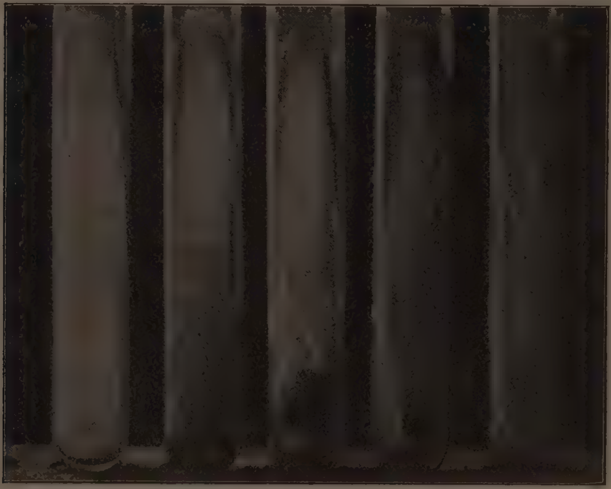


Fig. 17 – Dimostrazione dell'azione fungicida dei bulbi di *Loroglossum hircinum*. La prima provetta, di controllo, è una cultura su agar di rizoctonia. Nella seconda e terza provetta (da sinistra a destra) si vede lo sviluppo della *Rhizoctonia repens* arrestarsi con una linea netta: sul fondo delle due provette è stato posto un pezzo del bulbo. La quarta provetta contiene un pezzo di bulbo riscaldato: la rizoctonia seminatavi si è sviluppata come nel controllo. Nell'ultima provetta è stato posto un pezzo di bulbo e dopo averlo lasciato sull'agar per due settimane, è stato tolto e venne seminata la rizoctonia, la quale si arresta egualmente a contatto della zona prima occupata dal bulbo. (da Magrou).

più vicina al parassita (fig. 18). Un fatto analogo descrive il MOLLIARD nelle radici di melone invase dalla *Heterodera radicicola*. Attorno all'estremo cefalico del verme si osserva la formazione di cellule giganti il cui nucleo si frammenta per amitosi con caratteristiche simili a quelle osservate da SHIBATA nelle *Psilotum* e nelle *Podocarpus* le quali formano una barriera di tessuto lignificato che imprigiona il parassita (fig. 19).

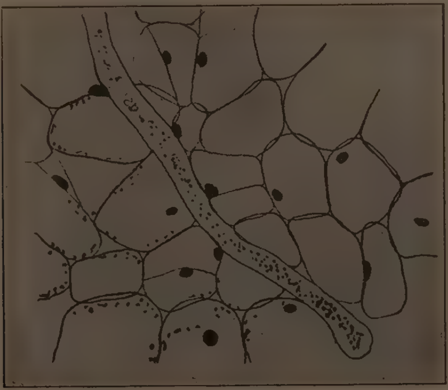


Fig. 18 – Filamento di *Phyllosiphon asteriforme* in foglie di *Zamioculcas*. I nuclei delle cellule in prossimità dell'alga si spostano in direzione di questa (da TOBLER).

Secondo BERNARD pure gli austorî delle peronosporacee e delle uredinacee che si sono sempre considerati come degli ipotetici organi di succhiamento, potrebbero invece rappresentare tentativi di penetrazione endocellulare di questi parassiti e assimilarsi agli arbuscoli e gomitoli di micelio degli endofiti (fig. 20). SAPPIN-TROUFFY e DANGEARD hanno messo in relazione la forma globosa e ramificata degli austori con le deformazioni ameboidi dei nuclei delle cellule invase e MAGNUS dice che talvolta di austori si possono trasformare in corpi mamellonati aderenti al nucleo cellulare, analogamente a quanto avviene nelle orchidee per cui potrebbero interpretarsi come forme degenerate di micelio arrestato dalle reazioni nucleari ed umorali delle cellule. È interessante rammentare che reazioni cellulari simili a quelle delle orchidee sono state osservate da DEMKERLY nelle cellule di un verme rispetto ad un coccidio.

DUFRENOY ha recentemente studiato i rapporti citologici fra la *Orisoema triphyllum*, pianta comune nei boschi di New York, e l'*Uromyces caladii* che facilmente la colpisce. Questa pianta si presta singolarmente a questo studio, perchè si può con facilità asportarne dei lembi di epidermide ed osservarli direttamente al microscopio con colorazioni vitali. Per questa via DUFRENOY ha potuto osservare che mentre le cellule normali sono quasi interamente occupate da un grande vacuolo il cui contenuto si colora con il rosso neutro, il

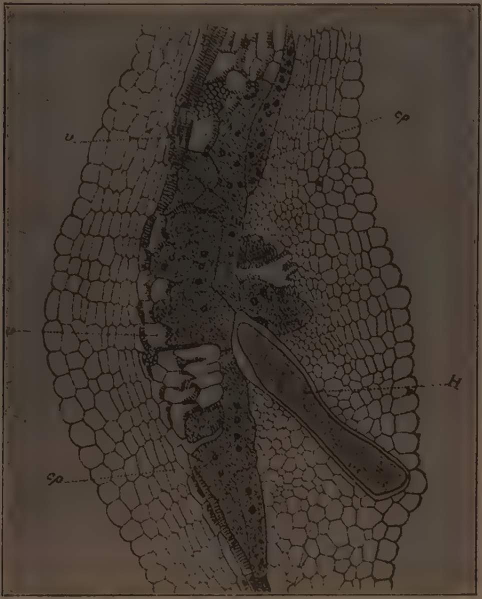


Fig. 19 – Sezione longitudinale di radichetta di melone attaccata da *Heterodera radicicola*. *H*, Parassita; *cp*, cellule giganti polinucleate; *v*, cellule vescicolari (da MOLLIARD).

nucleo e i nucleoli sono addossati alla periferia della cellula in una sottile zona di citoplasma. Quando un filamento miceliare del parassita penetra nelle cellule, il vacuolo nucleare si contrae addossandosi al citoplasma sì che la cellula sembra plasmolizzata, quindi si frammenta in vacuoli più piccoli, ancora colorabili con il rosso neutro, che circondano la punta del filamento miceliare; si inizia allora un processo litico per cui la massa protoplasmatica diviene confusa. Qualche volta però si osserva il processo litico estendersi al filamento miceliare il quale si gonfia, non si colora più, e si vacuolizza con un processo che DUFRENOY paragona alla fagocitosi descritta da BERNARD e MAGROU.

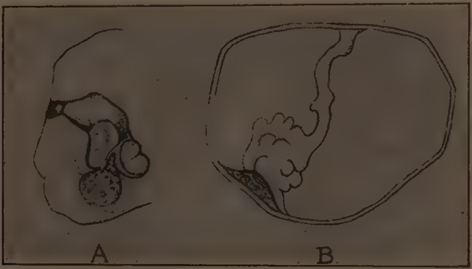


Fig. 20 – Austori di uredinee in vicinanza dei nuclei delle cellule invase. *A*, ***Baestelia cancellata*** **su** ***Sorbus aucuparia.*** *B*, ***Puccinia xanthii*** **su** ***Xanthium*** **(da MAGNUS).**

Trattando dell'immunità negli invertebrati, nel primo capitolo di questa monografia, è stata ricordata la fagocitosi come una forma di difesa degli insetti. La rammento ora per richiamare l'attenzione sulla analogia fra i fenomeni fagocitari delle piante che ho descritto con quelli messi in evidenza dal PAILLOT negli insetti. Anche in questi animali come nelle piante, la fagocitosi è opera di cellule immobili le quali inglobano egualmente i germi patogeni che vengono in loro contatto (v. pag. 22).

Lo studio citologico della infezione delle ruggini del frumento ha dato modo a Miss RUTH F. ALLEN di mettere in evidenza un fatto che ha una notevole importanza nella interpretazione della immunità naturale dei vegetali, e che è stato studiato e largamente descritto in patologia animale da ZIRONI e METALNIKOV (vedi pag. 19). L'ipersensibilità delle cellule di alcune varietà di frumento verso la *Puccinia graminis tritici* sarebbe la cagione della resistenza di queste alla malattia. Quando la muffa è penetrata attraverso gli stomi nel tessuto fogliare, se la varietà di frumento è recettiva essa può progredire attraverso le cellule trovando in esse condizioni favorevoli di vita non solo, ma recando almeno inizialmente qualche beneficio alle cellule stesse. Si avrebbe cioè un'armonia, come la chiama BLACKMANN, fra i processi fisiologici della muffa e quelli delle cellule che porterebbero allo stabilirsi di una simbiosi come stadio preliminare e necessario della malattia. Nelle varietà resistenti invece, la muffa appena penetrata attraverso gli stomi uccide le cellule nelle quali penetra con gli austori, ma una sostanza formata dalle stesse cellule uccide a sua volta l'ifa e, per diffusione, il micelio adiacente fino a una certa distanza. Questa disarmonia fra i processi fisiologici della muffa e delle cellule conduce alla morte di un ristretto gruppo delle cellule ospiti e del parassita salvando per tal modo la pianta dall'infezione. Nel 1925 A. ZIMMERMAN confermava queste interessanti osservazioni.

Un altro caso di immunità da ipersensibilità è quello rilevato da BLACKMANN per il *Fusarium lini*. Le diverse varietà di lino sono più o meno suscettibili a questo parassita, il quale però penetra nei tessuti di tutte le varietà resistenti e suscettibili. Mentre però in quelle suscettibili l'infezione si propaga lentamente e non si osserva alcuna reazione visibile da parte dei tessuti parassitati; nelle varietà resistenti si ha una diffusione rapidissima della infezione, accompagnata però da una reazione vivace dei tessuti invasi i quali circondano le ife invadenti con una barriera di cellule morte suberificate ed impermeabili le quali arrestano completamente ogni ulteriore progresso dell'infezione.

Questi fatti costituirebbero una conferma sperimentale della opinione emessa per primo da MARSCHALL WARD per spiegare l'immunità delle varietà di frumenti resistenti alle ruggini, secondo la quale l'assenza nelle cellule di queste piante di sostanze aventi una configurazione chimica strettamente necessaria ai parassiti, impedirebbe il loro attecchimento e la loro diffusione.

OPERE CITATE

Pag.

34 – Ferraris T., *Trattato di Patologia e terapia vegetale* (Ed. U. Hoepli, Milano, 1926).

– Carbone, Quarella e Venturelli, *Microbi saprofiti e microbi patogeni* (Riv. di Biol., 1919, vol. I, fasc. 2 e 3-4).

– Eriksson, *Die Pilzkrankheiten* (Leipzig, 1913).

37 – Vavilov N., *Immunity of plants to infectious diseases* (Accademia Petroskoe, Mosca, 1919).

40 – Stakman E. C., *Study in cereal rusts. Physiological races* (Minnesota agric. exper. Station Bull., 1915, n. 135).

– Christensen G. F. e Stakman E. C., *Physiologic specialisation and mutation in Ustilago Zeae* (Phytopathology, 1926, vol. 16).

– Rodenhiser H. A., *Physiologic specialisation of Ustilago nuda and Ustilago tritici* (Phytopathology, 1926, vol. 16).

– Gäumann T., *Ueber die Spezialisierung des falschen Mehltaus-Peronospora brassicae Gru.- auf dem Kohl und seinen Verwandten* (Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1926, pag. 463).

– Köhler, *Die Resistenzfrage im Lichte neuerer Forschungsergebnisse* (Centr. f. Bakt., II Abt., Bd. 78, 1929, pag. 222).

41 – Montemartini L., *Sopra la specializzazione dei funghi parassiti, con particolare riguardo, ecc.* (Riv. di pat. veg., anno VIII, n. 2-6-7, 1916).

– Blumer S., *Neue Wirtspflanzen von Mehltaupilze* (Soraur's Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten, 1926, vol. 36, pag. 232).

– Vavilov N. (vedi pag. **37**).

42 – Biffen R. H., *Investigations on the control of disease in plants* (Journal of the Royal Hortic. Soc., vol. 39, parte II, 1913).

– Laubert R., *Die wichtigsten Krankheiten der Rose* (Gartenflora, 59 figure, 1910).

43 – Spinks G. T., *Factors affecting susceptibility to disease in plants* (Journ. of agric. sc., vol. V, parte III, giugno 1913).

– Rivera V., *Ricerche sperimentali sulle cause predisponenti il frumento alla « Nebbia »* (Memorie della R. Stazione di patologia vegetale di Roma, 1915).

– Schander R., *Krankheiten des Beerenobstes* (Mitt. Landw. Inst. Bromberg, IV, 1907, pag. 10).

Pag.

43 – Averna Saccà, *L'acidità dei succhi delle piante in rapporto alla resistenza contro gli attacchi dei parassiti* (Le Staz. Sper. agrarie ital., vol. 43, n. 2, 1910, pag. 185).

– Montemartini L. (Riv. di pat. veg., 1904, fasc. IV, pag. 53).

– Spinks (Journ. agricult. science, V. 1913, pag. 231).

– Pantanelli T., *Sui rapporti fra nutrizione e recettività per la ruggine* (Riv. di Pat. Veg., 1921, anno XI, pag. 36).

– Schaffnit E. e Volk A., *Ueber den Einfluss der Ernährung auf die Empfänglichkeit der Pflanzen fur Parasiten* (Forsch. a. d. Geb. d. Pflanzenkrankheiten, 1927).

– Jordi, *Getreidemehltau Hollrungs* (Z. f. Pflanzenkr., 1906, pag. 245).

44 – Rivera V., *Primo contributo allo studio della recettività della quercia per l'oidio* (Rend. R. Acc. dei Lincei, vol. XXII, classe scienze, Roma, 1913, pag. 168).

– Foëx E., *Note sur Oidiopsis taurica* (Ann. Ecole Montpellier, VII, 1909, pag. 176).

– Pantanelli E., *Osservazioni sulla recettività della quercia per l'oidio* (Accad. d. scienze, Napoli, maggio 1914).

– Montemartini L., *Sopra la resistenza delle quercie all'oidio* (Riv. di Pat. Veg., 1918, anno IX, pag. 77).

– Griffiths M. A., *Smut susceptibility of naturally resistant corn when artificial inoculated* (Jour. of agric. researches, 1928, vol. 36, pag. 77).

– Pool V. W. e Kay Mc. M. B., *Relation of stomatal movement to infection by « Cercospora beticola »* (Jour. of agric. researches, 1916, vol. V, pag. 1011, n. 22).

– Rivera V., *Epidemie crittogamiche e fattori di ambiente che le determinano* (Rass. int. di agronomia, 1924, vol. II, pag. 617).

45 – Cobb N. A., *Contribution to an economic knowledge of the Australian rusts* (Agric. Gazette of New South Wales, vol. III-IV, 1892 e 1893).

– Blackmann V. H., *Discussion on some similarities and dissimilarities between Plant and Animal diseases. With special reference to immunity and virus diseases* (British med. J., 21 ottobre 1922, n. 3225).

– Vavilov N. (vedi pag. **37**).

– Nobécourt P., *Contribution à l'étude de l'immunité chez les végétaux* (Ed. Barlier, Tunis, 1928).

46 – Conant G. H., *Histological studies of resistance in tobacco to « Thielavia basicola »* (American Jour. of Bot., 1927, vol. XIV, p. 457).

– Gilchrist G. G., *The nature of resistance to footrot caused by « Ascochyta » sp. and some other fungi in the epicotye of the pea* (Phytopathology, 1926, vol. XVI, pag. 269).

– Hursh C. R., *Morphological and physiological studies on the resistance of wheat to « Puccinia graminis tritici » Erikss. and Henn* (Jour. of agric. research., 1924, vol. 27, pag. 341).

47 – Vavilov N. (vedi pag. **37**).

Pag.

47 – Nobécourt P., *Sur le mécanisme de l'action parasitaire du « Penicillium glaucum » Lk et du « Mucor stolonifer » Ehrb* (C. R. Acad. des sciences, 1923, vol. 177).

– Melander L. W. e Craigie F. N., *Nature of resistance of Berberis spp. to Puccinia graminis* (Phytopathology, 1927, vol. 17).

– Eriksson, *Ein parasitischer Pilz als Index der inneren Natur des Pflanzenbastardes* (Botan. Notizer, 1895, pag. 251-253).

– Henning E., *Vara viktigare landbruksväxters disposition för och immunitet gent emot parasitsvamper* (K. Landtbruks-Akadamiens Handlingar och Tidskrift, 1909).

– Marshall-Ward, *On the question of « Predisposition » and « Immunity » in Plants* (Proceedings of the Cambridge Philosophical Society, vol. XI, parte 5, pag. 307-328).

– Vavilov N. (vedi pag. **37**).

– Nobécourt P. (vedi pag. **45**).

48 – Comes O., *Della resistenza dei frumenti alle Ruggini. Stato attuale della questione e provvedimenti* (Atti d. R. Ist. di incoraggiam., Napoli, vol. 64, 1913).

– Comes O., *Della resistenza dei frumenti alle Ruggini ed in generale delle piante alle loro cause nemiche* (Ann. Scuola sup. di agric. di Portici, serie II, vol. 12, 1914).

– Comes O., *La profilassi nella patologia vegetale* (Napoli, 1916).

– Averna-Saccà, *L'acidità dei succhi delle piante in rapporto alla resistenza contro gli attacchi di parassiti* (Staz. sper. agr. ital., Modena, 1910, vol. 43, pag. 185).

– Butler E. F., *Immunity and diseases in plants* (Agr. Journal India, 1918).

– Degli Atti, *L'acidità dei succhi in alcuni vitigni e la loro resistenza alle malattie* (Annali R. Scuola sup. agric., Portici, 1916).

– Lo Priore G., *L'acidità dei succhi vegetali come mezzo di difesa contro parassiti* (Ann. R. Scuola sup. di agricoltura, Portici, 1914, vol. XII, pag. 267).

– Scurti e Sicca, *Sulla resistenza delle diverse varietà di frumento di fronte alle ruggini* (Ann. d. R. Staz. chimico-agrarie, Roma, serie II, vol. VII, 1914, fasc. 1).

– Kirchner O., *Untersuchungen über die Empfänglichkeit unserer Getreide f. Brand. und Rostkrankheiten* (Fühlings landwirt. Zeitung, 1916, anno 65, fasc. 1, 2, 3, 4).

49 – Pantanelli E. (vedi pag. **43**).

– Wille F., *Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Immunität und Reaktion des Zellsaftes* (Zeitschr. f. Pflanzenkr., 1927, Bd. 37).

– Hursch C. R., *Morphological and physiological studies on the resistance of weat to puccinia graminis* (Jour. agric. res., vol. 27, 1924, pag. 381).

50 – Hurd-Karer A. M., *Acidity and varietal resistance of wheat to Tilletia Tritici* (Amer. Jour. of Bot., 1925, vol. XII, pag. 359-371).

– Paris F., *L'acidità dei succhi vegetali come mezzo di difesa contro i parassiti* (Riv. Biol., I, 1919, fasc. 5-6).

Pag.

50 – Arrhenius O., *Untersuchungen über den Zusammenhang von Gelbrostresistenz und der aktuellen und potentiellen Azidität des Zellsaftes und der Gewebe* (Sorauer's Zeitsch. f. Pflanzenkr., Bd. 34, 1924, pag. 97-101).

– Hurd A. M., *The course of acidity changes during the growth period of wheat with special reference to stemrust resistance* (Journal of agric. research, 1924, vol. 27, pag. 725-735).

– Minnesota agric. exp. Station Report, 1918, pag. 40.

– Laurent F., *Les conditions physiques de la résistance de la vigne au Mildiou* (C. R. Acad. d. sc., vol. 152, 1911, pag. 103).

– Senn G., *Der osmotische Druck einiger Epiphyten und Parasiten* (Verh. d. Naturf. Gesellsch. in Basel, Bd. XXIV, 1913, pag. 178).

– Mac Dougal D. e Cannon W., *The conditions of parasitism in plants* (Washington, 1910).

– Mac Dougal D., *The Making of Parasites* (The Plant world, vol. XIII, 1910, Tucson, Arizona).

– Rivera V. (vedi pag. **37**).

– Draghetti A., *Caratteri osmotici e resistenza dei frumenti alle ruggini* (Riv. di pat. veg., 1928, n. 3-4, pag. 41).

– Vavilov N. (vedi pag. **37**).

– Tischler G., *Untersuchungen über die Beeinflussung der Euphorbia Cyparissias durch Uromyces Pisi* (Flora-Allgemeine Bot. Zeit., 1911, Bd. 104, Heft 1).

– Pantanelli E. (vedi pag. **43**).

– Hursch C. R. (vedi pag. **46**).

– Stahl, *Zur Biologie der Mixomyceten* (Bot. Zeit., 1884).

– Reinhardt M. O., *Das Wachstum der Pilzhyphen* (Jahrb. f. wiss. Bot., 1892).

– Büsgen M., *Ueber einige Eigenschaften der Keimlinge parasitischer Pilze* (Bot. Zeit., 1893).

– Miyoshi M., *Die Durchbohrung von Membranen durch Pilzfäden* (Jahrb. f. wiss. Bot., 1895).

– Miyoshi M., *Ueber Chemotropismus der Pilze* (Botanische Zeitung, 1894).

– Massee G., *On the origin of parasitism in fungi* (Philos. Trans. Roy. Soc. of London serie B., vol. 197, 1904).

51 – Massee G., *Text-Book of fungi* (London, 1910).

– Gibson C., *Notes on infection experiments with various Uredinae* (The New Phytologist, 1904).

– Allen R. F., *A cytological study of infection of Baart and Kanred wheats by Puccinia graminis tritici* (Jour. agric. res., 1923).

– Salmon E., *On specialization of parasitism in the Erysiphaceae* (Beihefte z. Botan. Centralbl., 1903, Bd. XIV, Heft 3).

– Salmon E., *On erysiphe graminis and its adaptive parasitism within the genus Bromus* (Annales Mycologici, 1904, vol. II, n. 3-4).

– Salmon E., *Cultural experiments with the Barley Mildew* (Annales Mycologici, vol. II, n. 1, 1904).

Pag.

51 – Salmon E., *Cultural experiments with « Biologic forms » of the Erysiphaceae* (Philosophical Trans. of the R. Soc. of London, Ser. B, vol. 197, 1905, pag. 107).

– Salmon E., *On forms of the hop (Humulis lupus J.) resistant to mildew (spherotheca humuli D. C.)* (J. of agric. science, vol. VII, part 4, 1917, pag. 455).

– Marryat D., *Notes on the infection and histology of two wheats immune to the attacks of Puccinia glumarum* (J. of agric. science, vol. II, pag. 128, 1907).

– Fulton H. R., *Chemotropism of fungi* (The bot. Gaz., 41, 1906).

– Brown W., *Studies in the physiology of parasitism.* I. The Action of Botrytis cinerea (Ann. of Bot., vol. XXIX, 1915).

– Brown W., *Studies in the Physiology of parasitism.* III. On the relation between the « infection-drop » and the underlying host-tissue (Ann. of Bot., vol. XXX, 1916).

– Brown W., *Studies in the Physiology of Parasitism.* IV. On the distribution of cytase in cultures of Botrytis cinerea (Ann. of Bot., 1917).

– Vavilov N. (vedi pag. **37**).

– Schmidt E. W., *Ueber den Parasitismus der Pilze* (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., 1909).

– Petri L., *Un'esperienza sopra il valore del chemiotropismo nell'azione parassitaria dei funghi* (Rend. Acc. Lincei, 1919, vol. XVIII).

– Nobécourt P., *Action de quelques alcaloides sur le Botrytis cinerea* (C. R. Acad. des sciences, 1921, vol. 172).

52 – Salmon E. S. (vedi pag. **51**).

– Wagner F. R., *Ueber bakterizide Stoffe in gesunden und kranken Pflanzen* (Centr. f. Bakt., II Abt., 1915, Bd. XLII, pag. 613).

– Cartwright K., *On the nature of the resistance of the potato wart disease* (Ann. of botany, 1926, vol. 40, pag. 391).

53 – Walker F. C. L., Lindgren C. C. e Bachmann F. M., *Further studies on the toxicity of juice extracted from succulent union scales* (Journ. of agric. res., 1925, vol. 30, pag. 175).

– Benigni E., *Note sull' « Ustilago Maydis » (D. C.) Corda nella Valle Padana* (Riv. di Patologia Vegetale, anno XVII, n. 3-4, 1927).

– Nobécourt P. (vedi pag. **45**).

54 – Carbone D., *Studi sulle reazioni immunitarie delle piante* (Boll. Ist. Sier. Mil., II, n. 5, 1922, pag. 261).

– Carbone D., *Le reazioni immunitarie delle piante.* — Rivista critica. (Bioch. e ter. sper., X, fasc. 7, 1923).

– Carbone D. e Arnaudi C., *Nuove esperienze sulle reazioni immunitarie delle piante* (Atti Soc. It. sc. nat., 1924, vol. 63, pag. 269).

– Carbone D. e Arnaudi C., *Ancora sulle reazioni immunitarie delle piante* (Atti d. Società It. di scienze nat., 1924, vol. 63).

– Arnaudi C., *Sopra uno pseudo ambocettore emolitico del gelso* (Boll. dell'Ist. Sieroter. Mil., dicembre 1925).

55 – Belfanti S., *Immunità.* Estratto dal Trattato di Anatomia pàtologica di P. Foà (Torino, U.T.E.T., 1923, pag. 21).

Pag.

55 – GUTTEMBERG, *Beiträge zur physiol. Anatomie der Pilzgallen* (Leipzig, 1905).

– BRUELLOWA L. P., *Ueber den Selbstschutz der Pflanzenzellen gegen Pilzinfektion* (Centralblatt f. Bakteriol., II Abt., Bd. 21, pag. 428, 1908).

– PANTANELLI E., *Contributi alla biologia della peronospora della vite* (Riv. pat. veg., X, 1920, n. 4-5).

– MANZONI L., *Una causa batterica dell'incappucciamento del trifoglio pratense* (Le Stazioni sper. agr. it., vol. IV, pag. 136, 1922).

– MONTEMARTINI L., *A proposito del parassitismo facoltativo di alcuni funghi saprofiti* (Riv. di pat. veg., 1927, n. 5-6, pag. 115).

– VAN DER WOLK P. C., *Innere Sekretion bei den Pflanzen* (Umschau, 23 luglio 1922).

56 – MONTEMARTINI L., *Note di fitopatologia vegetale* (Atti dell'Ist. botanico d. R. U. di Pavia, serie II, vol. XIV, 1904).

– MONTEMARTINI L., *L'azione dell'Aecidium clematidis D. C. sopra le foglie della pianta ospite* (Riv. di pat. veg., anno VIII, n. 8-9, pag. 165, 1918).

– MARQUER (Bull. de la Soc. d'Histoire Naturelle de Toulouse, 1927).

– PAVARINO L., *Intorno alla produzione del calore nelle piante ammalate* (Atti dell'Ist. bot. R. U. Pavia, vol. XIII, 1910).

– CARBONE D. (vedi pag. **54**).

57 – PEGLION V., in: *Pflanzenteratologie* di PENZIG. (Genova, 1890-94).

– CUBONI G., *La teratologia vegetale e i problemi della biologia moderna*, in: *Scritti scelti cuboniani* (a cura del Prof. G. B. TRAVERSO; Tip. Fusi, Pavia, 1924).

58 – HABERLANDT G., *Zur Physiologie der Zellteilung* (Sitzungsberichte d. kön. preussischen Akad. d. Wissenschaften, 1914, seduta del 10 dicembre, classe fisico-matematica).

– HABERLANDT G., *Ueber Zellteilungshormone und ihre Beziehungen zur Wundheilung, usw.* (Biologisches Zentralblatt, Bd. 42, 1922).

– CENTANNI E., *Sopra alcuni rapporti tra tumori vegetali e tumori animali* (Tumori, anno XV, serie II, vol. III, fasc. 1, 1929).

– ARNAUDI C., *Sull'immunità acquisita nei vegetali* (Atti Soc. It. sc. nat., 1925).

59 – CAVARA F., *Fatti di correlazione ed ormoni nelle piante* (Archivio di biologia, 1924).

– CARBONE D., QUARELLA B. e VENTURELLI G. (vedi pag. **34**).

– ARNAUDI C. (vedi pag. **58**).

– CARBONE D., *Le ossidasi e le loro applicazioni pratiche* (Biochimica e terapia sperimentale, vol. I, fasc. V).

60 – TOBLER F., *Ein neues tropisches Phyllosiphon, seine Lebensweise und Entwicklung* (Jahrb. für wissenschaftl. Botanik, Bd. 58, Heft 1, 1917).

– VAN DER WOLK P. C. (vedi pag. **55**).

61 – BERNARD N., *Études sur la tubérisation* (Rev. gén. de bot., XIV, 1902).

– BERNARD N., *Remarques sur l'immunité chez les plantes* (Bull. Inst. Pasteur, T. VII, 1909, pag. 369).

Pag.

61 – BERNARD N., *Sur la fonction fungicide des bulbes d'Ophrydées* (Ann. sc. nat. Bot., IX serie, 1911, T. 14, pag. 223).
– BERNARD N., *Les mycorhizes des Solanum* (Ann. sc. Nat. bot., IX s., T. XIV, 1911).
– BERNARD N., *Principes de Biologie végétale* (Ed. Alcan, Paris, 1921).
– BERNARD N., *La culture des Orchidées dans ses rapports avec la symbiose* (J. de la Soc. Nat. d'hortic. de France, IV serie, T. XXIV, 1923).
– BERNARD Mme N. e MAGROU J., *Les mycorhizes des pommes de terre sauvages* (Ann. sc. nat. bot., 1911, IX serie, T. XIV).
– MAGROU J., *L'immunité dans la symbiose* (Ann. Inst. Pasteur, vol. 32, 1918, pag. 37).
– MAGROU J., *Symbiose et tubérisation* (Ann. sc. nat., X serie, T. III, 1921).
– MAGROU J., *La symbiose chez les plantes* (Bull. Inst. Pasteur, 1922, vol. XX, pag. 169-183, 217-231).
– MAGROU J., *A propos du pouvoir fungicide des tubercules d'Ophrydées* (Ann. sc. nat., X serie, T. VI, 1924).
– MAGROU J., *L'immunité humorale des plantes* (Rev. de path. veg., 1924, pag. 189, vol. XI).

63 – DANGEARD P. A. e ARMAND, *Observations sur la biologie cellulaire des mychorizes de l'Ophrys aranifera* (Le Botaniste, V serie, 1897).
– MAGNUS W., *Studien an der endotrophen Mycorhiza von Neottia Nidus avis* (Jahrb. f. wiss. Bot., vol. 35, 1900).
– JANSE, *Les endophytes radicantes de quelques plantes javanaises* (Ann. Jard. bot. de Buitenzorg, XIV, 1897).
– GALLAUD J., *Études sur les mycorhizes endotrophes* (Rev. gén. de bot., T. XVII, 1905).

64 – CARBONE D. (vedi pag. **54**).
– BERNARD N. (vedi pag. **56**).

66 – NOBÉCOURT P., *Sur la production d'anticorps par les tubercules des Ophridées* (C. R. Acad. sciences, vol. 177, 1923, pag. 1055).

68 – TOBLER F. (vedi pag. **60**).
– COMINI A., *La germinazione dei semi di orchidee.* (Natura, vol. XVIII, 1927, pag. 181).

69 – MOLLIARD M., *Action morphologénique de quelques substances organiques sur les végétaux supérieurs* (Rev. gén. Bot., XIX, 1907).
– SAPPIN-TROUFY (Le Botaniste, V serie, 1897).
– DANGEARD P. A. e ARMAND (vedi pag. **63**).

70 – DUFRENOY F., *Étude cytologique des rapports entre parasite et cellule végétale* (Annales de l'Inst. Pasteur, 1929, n. 2).

71 – ALLEN R. F. (vedi pag. **51**).

72 – ZIMMERMANN (Centr. f. Bakt., II Abt., vol. 65, 1925, pag. 311).
– BLACKMANN V. H. (vedi pag. **49**).
– MARSHALL WARD (vedi pag. **47**).

PARTE SECONDA

CAPITOLO III.

L'IMMUNITÀ ACQUISITA NEI VEGETALI

CARLO ARNAUDI

§ 1. – GENERALITÀ.

La possibilità della vaccinazione delle piante è negata *a priori* da vari autori. Le differenze anatomiche e fisiologiche esistenti fra gli animali e le piante, spiegherebbero secondo essi l'impossibilità per queste ultime, di acquisire uno stato di immunità dopo una infezione più o meno grave. Pur trascurando quelli che per imperfette conoscenze della immunologia animale e per opinioni forse un po' antiquate di fisiologia vegetale, non prendono nemmeno in considerazione la possibilità della vaccinazione dei vegetali, dato l'abisso che secondo essi separerebbe i due classici regni dei viventi, vi sono autori come il BLACKMANN che negano questa possibilità perchè essendo le malattie infettive dei vegetali per lo più poco generalizzate, le reazioni delle piante non potrebbero essere che localizzate ed in ogni caso un eventuale grado di immunità acquisita non potrebbe interessare che un numero molto circoscritto di cellule. Secondo il BLACKMANN, anzi, sarebbe proprio questa impossibilità dei vegetali ad acquisire uno stato immunitario che costituirebbe la più importante differenza tra la patologia animale e quella vegetale. Altre obiezioni aprioristiche sono basate sulla diversità profonda esistente fra gli umori vegetali e quelli animali, e sul fatto che nei primi manca una circolazione paragonabile a quella del sangue degli animali, nella quale hanno principale sede i fenomeni immunitari di questi ultimi. La circolazione dei succhi nelle piante è riguardata ancora da alcuni come un fenomeno puramente meccanico e, direi, passivo, interessante per la maggior parte solo i fasci lignificati della pianta, e perciò senza possibilità di intervenire in delicati fenomeni biologici quali sono quelli immunitari.

Le più moderne vedute di fisiologia vegetale mettono invece in singolare rilievo, la importanza delle cellule vive nella circolazione dei succhi, e si vedrà, nei capitoli seguenti, come le obiezioni che si basano su queste considerazioni ne rimangano scosse. Del resto agli aprioristici ragionamenti degli scettici della vaccinazione delle piante, si possono opporre considerazioni altrettanto pregiudiziali che ci fanno ritenere tale impossibilità teoricamente inconsistente. Ad esempio, la possibile generalizzazione delle malattie a tutto l'organismo si può constatare nelle forme infettive dei vegetali dovute a batteri che rapidamente investono tutta la pianta; e in quelle date da miceti che infettano i vasi cribrosi, per le quali si ha pure in breve una rapida e vasta diffusione a tutto l'organismo. Egualmente si possono ricordare le profonde variazioni e le alterazioni che subiscono gli umori delle piante vascolari durante le malattie, messe in evidenza per primo da VUILLEMIN; e gli analoghi risultati avuti recentemente da GIOELLI circa la variazione delle proteine nei succhi delle piante ammalate in confronto a quelli delle piante sane. Questo autore con lo studio refrattometrico dei succhi, unitamente a saggi chimici e chimico-fisici, ha potuto dimostrare che la variazione delle proteine nei succhi delle piante ammalate è dello stesso ordine delle variazioni degli umori degli animali ammalati, ed interpreta questo risultato come indice che «*la cellula vegetale reagirebbe all'infezione come la cellula animale*».

Le recenti ricerche immunitarie sui tessuti animali coltivati *in vitro*, hanno dimostrato come essi siano capaci di formare ancora anticorpi specifici. È evidente come allo stato di cultura queste cellule animali si trovino in condizioni assai più vicine a quelle vegetali non avendo più alcuna correlazione nervosa o circolatoria. Per tal modo cade l'obiezione che le piante non possono dare reazioni immunitarie umorali perchè sono prive di una vera circolazione del tipo di quella sanguigna (v. pag. 19).

D'altro canto si potrebbe citare l'opinione di vari autori, come ad esempio il VAVILOV ed il SORAUER, i quali pur senza esperienza propria ritengono teoricamente possibile la vaccinazione delle piante.

Ritengo però sia più probante di ogni considerazione teorica la esposizione di quei fatti esattamente accertati che stanno a provare la possibile immunizzazione attiva dei vegetali. A dire il vero, la casistica di cui disponiamo non è nè numerosa nè scevra di critiche, tuttavia è sufficiente per permetterci di asserire, anticipando così la conclusione di questo capitolo, che i fatti fino ad ora raccolti dimostrano come anche le piante possano acquisire un maggior grado di resistenza alle malattie, quando ne abbiano subìto un primo attacco, od abbiano assorbito germi morti o prodotti di disintegrazione di questi.

§ 2. – RESISTENZA ALLA SUPERINFEZIONE.

Un vero stato immunitario acquisito attivo della pianta si ha soltanto quando questa ha superata la malattia oppure l'ha subita in forma lieve, tuttavia anche i casi di resistenza ad una nuova infezione, mentre la pianta è attaccata dalla stessa forma infettiva — nella stessa od in altra parte di essa — possono rappresentare delle forme di immunità più strettamente locale che hanno un notevole interesse dal nostro punto di vista. A questa categoria di fenomeni si possono ascrivere le osservazioni di BERNARD il quale nel corso delle sue ricerche sugli endofiti delle orchidee, di cui si è trattato nel precedente capitolo, constatò come i semi di orchidee infetti da rizoctonia attenuata nella sua virulenza, e che perciò non riusciva a portarli alla germinazione, rimanevano per così dire refrattari all'azione di altre rizoctonie virulente. Infatti quando BERNARD faceva agire su di essi degli stipiti fortemente virulenti, la germinazione non avveniva egualmente, fatto questo che era interpretato dall'autore come un fenomeno del tutto paragonabile a quelli che si osservano negli animali con la vaccinazione, ossia una vera immunità attiva acquisita generale.

MAGROU, che ha ripetuto le esperienze di BERNARD ed ha studiato gli endofiti delle patate, ha constatato fenomeni del tutto simili per questa pianta che è geneticamente così lontana dalle orchidee; questo fatto permette al MAGROU di pensare, che la immunizzazione acquisita delle piante sia un fenomeno più generalizzabile di quanto non si creda.

Fatti sempre rapportabili alla resistenza a nuove infezioni da parte di piante già ammalate, hanno osservato Hiltner e Störmer i quali, dopo aver infettato le radici di leguminose allevate sterilmente, con ceppi virulenti di *B. radicicola*, non riuscirono più a far attecchire su di esse altri ceppi meno virulenti. In questo caso abbiamo, è vero, il contrario di quello che si pratica nella vaccinazione, cioè, il ceppo meno virulento è il secondo inoculato, ma non per questo sussiste meno lo stato immunitario acquisito in seguito alla simbiosi.

Smith in alcune ricerche, non confermate da altre sue riprove, avrebbe riscontrato che geranî portanti tumori da *B. tumefaciens* non formavano altri tumori, quando erano nuovamente inoculati dopo qualche tempo. Anch'io ho confermato questi risultati in una prima esperienza nel 1925 e visto i risultati di essa, fatta su pochi esemplari di piante, ho voluto ripeterla nel 1927 su un numero maggiore di geranii per evitare, almeno in parte, l'errore dato dal fatto che le inoculazioni sperimentali di *B. tumefaciens* non sempre danno luogo alla formazione del tumore con una percentuale del cento per cento. Operai su tre lotti distinti di piante in vasi (fig. 21).

Il primo lotto era costituito da cinque piante che portavano già tumore per inoculazione da *B. tumefaciens* da oltre un anno. Su due di queste piantine praticai due inoculazioni ciascuna, mentre sulle altre ne feci una sola. Due inoculazioni eseguii pure su una pianta che portava un tumore alla biforcazione dei due rami. Il secondo lotto era dato da cinque piante portanti tumori molto grossi, ed in parte disseccati provenienti da inoculazioni di 21 mesi precedenti. Il terzo lotto era costituito da nove piante sane della stessa età e varietà delle piante tumefatte e fungevano da controllo. Infine ancora come controllo si infettò pure una pianta senza tumore, con ferita guarita di una puntura larga e profonda, ma sterile. Tutte le nuove infezioni furono praticate 2-3 cm. al disopra del tumore preesistente, mediante un sottile ago da iniezioni, col quale si prelevava una particella di cultura di 5-6 giorni su agar glucosato acido inclinato. Sopra la ferita avevo cura di lasciare una piccola quantità di coltura allo scopo di mantenerla umida e di impedire l'immediato disseccamento ed uccisione dei germi.

A tre mesi dall'inoculazione ebbi i seguenti risultati:

Primo lotto: piante inoculate cinque; inoculazioni fatte 8, inoculazioni guarite 6. Due inoculazioni diedero luogo alla formazione di due piccoli tumori appena erompenti dalla ferita che appare allargata ed allungata. La pianta con tumore alla biforcazione guarì in un ramo e formò tumore sull'altro. Una delle piante con due inoculazioni guarì di entrambe le ferite; l'altra pianta guarì di una e formò tumore all'altra ferita.

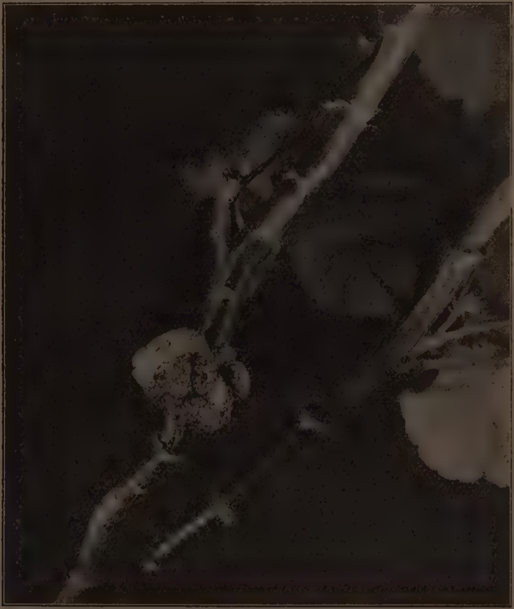


Fig. 21 – Tumore su geranio da *B. tumefaciens*. Al di sopra del tumore si nota la ferita guarita provocata con la successiva puntura infettante.

Secondo lotto: piante inoculate 5, inoculazioni 5, piante guarite 3, piccoli tumori 2.

Terzo lotto: piante inoculate 9, inoculazioni 9, piante guarite 2, tumori formati: piccoli 4, grossi 3, la pianta con ferita guarita guarì nuovamente.

Raccolgo i risultati nel seguente specchietto onde renderli più chiari.

Piante trattate	Piante inoc.	N° delle inoculazioni	Inoculazioni guarite	Tumori formati		
				piccoli	grossi	Totale
Piante con tumori recenti (I lotto).	5	8	6	2	—	2
Piante con tumori vecchi (II lotto).	5	5	3	2	—	2
Totale piante con tum. preesistenti.	10	13	9	4	—	4
Piante sane di controllo (III lotto).	9	9	2	4	3	7
Pianta con ferita guarita.........	1	1	1			

Ho ottenuto anche il non attecchimento del tumore secondario, operando su un ramo al quale era stato applicato un tubo a T (ved. pag. 190 e fig. 34) ripieno d'acqua distillata, che collegava la parte del ramo portante il tumore con quella che subiva la nuova reinfezione. La constatazione avvenne su un solo esemplare e perciò il valore di essa è limitatissimo, ma se fosse confermata permetterebbe di pensare ad un fattore umorale nel meccanismo della maggiore resistenza acquisita dalla pianta.

NOBÉCOURT, in esperienze analoghe, ha ottenuto invece risultati negativi sia sul crisantemo, che sul ricino, con le quali piante ha sperimentato. Bisogna dire però che la reinfezione era eseguita ad una maggiore distanza dal tumore primitivo, e perciò la contraddizione fra i suoi risultati ed i miei si potrebbe spiegare oltre che con la differenza delle specie di piante usate come ospiti, anche con una stretta localizzazione dell'immunità.

§ 3. – VACCINAZIONE DELLE PIANTE.

Maggiore importanza, sopratutto ai fini pratici, hanno indubbiamente gli studi fatti sulle vaccinazioni vere e proprie. Vaccinazioni che si dovrebbe distinguere in locali e generali, ma che effettivamente non si possono dividere a causa delle modalità delle esperienze che sono qualche volta tali da rendere impossibile questa discriminazione e talaltra condotte in modo da dimostrare la contemporanea esecuzione delle due forme di vaccinazione. Abbiamo in ogni caso un certo numero di risultati nettamente positivi anche se non si giunge sempre al conferimento di una immunità assoluta.

Da un recente lavoro del CARBONE, tolgo l'elenco seguente di varie coppie di fanerogame ospiti e crittogame parassite o comunque simbionti per le quali sono stati riscontrati fenomeni immunitari.

1. *Begonia* sp. e *Botritis cinerea* (BEAUVERIE).
2. Lupino e *B. putrefaciens* (RAY)
3. Grano e *B. putrefaciens* (RAY).
4. Avena e *B. putrefaciens* (RAY).
5. Fagiolo e *B. putrefaciens* (RAY).
6. Orchidee varie e *Orcheomyces* spp. (BERNARD).
7. Patata e micoriza della dulcamara (MAGROU).
8. Grano e *Helmintosporium sativum* (ZOJA).
9. Pisello e *Blepharospora cambivora* (ARNAUDI).
10. Fagiolo di Soisson e *Botrytis cinerea* (NOBÉCOURT).
11. Fava e *B. carotovorus* (NOBÉCOURT).
12. Patata e *Bacillus* sp. (gruppo Mesenterici) (ARNAUDI).
13. Grano, cavolo, cavolfiore ed altre piante non specificate e *Leptosphaeria herpotrichoides, Fusarium vasinfectum, Fusarium oxysporium* ed altri funghi non specificati (HURSH).
14. *Loroglossum hircinum* e *Rhizoctonia repens* (BERNARD, MAGROU).
15. *Loroglossum hircinum* e *Orcheomyces psicodis* (NOBÉCOURT)
16. *Loroglossum hircinum* e *O. chlorantae* (NOBÉCOURT).
17. *Loroglossum hircinum* e *O. Hircini* (NOBÉCOURT).
18. Mais e *Ustilago maydis* (BENIGNI).

Il primo lavoro organico che rappresenti un tentativo di vaccinazione delle piante è quello di BEAUVERIE del 1901. La *Botrytis cinerea*, nella forma non sporificata è patogena per le begonie, che attacca sopratutto allo stadio di giovani talee in serra. Il BEAUVERIE, agendo opportunamente con la temperatura e una forte umidità atmosferica, riuscì ad ottenere uno stipite di *Botrytis* dotato di leggera virulenza, rappresentante uno stadio intermedio tra la forma non sporificata patogena, e quella sporificata saprofita. Somministrando questa forma di *Botrytis* alla terra nella quale metteva a crescere le giovani begonie, il Beauverie constatò che queste non mostravano di soffrirne gran che, non solo, ma che in seguito resistevano alla inoculazione dello stipite virulento.

Quasi contemporaneamente al Beauverie, il Ray pubblicò le sue esperienze di vaccinazione del lupino, fagiolo, grano, ed avena contro il *B. putrefaciens* che è causa d'un marciume di queste piante. Trattate preventivamente con culture attenuate del microrganismo in parola, o con i suoi estratti, le piante subiscono una leggera malattia di breve durata che serve a proteggerle da successivi attacchi da parte di ceppi virulenti.

L'azione degli estratti di germi sarebbe anche più efficace data la maggiore diffusibilità di essi. In questi casi si tratta con alcool una abbondante cultura e si riprende in acqua il precipitato, usando poi questa pseudosoluzione, direttamente sulle piante. Sempre secondo il Ray, infine, parrebbe utile, per vaccinare piantine od anche per curare piante ammalate, l'uso di estratti di piante rese preventivamente resistenti, il che rappresenta un vero parallelo con la sieroterapia animale.

Risultati positivi di vaccinazioni parvero quelli di Tischler, il quale avrebbe reso dei rami di *Euphorbia cyparissias* resistenti all'attacco di *Uromyces pisi* liberandoli mediante un soggiorno in ambiente caldo umido dall'infezione primaria, prima della formazione degli austori del parassita; ma in un seguente lavoro lo stesso autore constata come la guarigione e relativa immunizzazione non fossero che apparenti.

Nel 1924 la Zoja portò un notevole contributo al nostro problema con la pubblicazione delle sue esperienze di vaccinazione del frumento contro l'*Helminthosporium sativum,* fatte sotto la direzione del Montemartini.

Quest'autrice faceva germinare dei semi di frumento su estratti acquosi di cultura del parassita, quindi li portava in piena terra od in vaso e qualche giorno dopo praticava l'infezione con la muffa patogena. Esaminando al microscopio sezioni di fusti e foglie potè notare che mentre nelle piante controllo, i cui semi erano germinati su acqua, vi era sempre presenza del fungo nelle cellule, in quelle delle piante vaccinate questo era completamente assente, per quanto alla superficie esterna delle sezioni apparisse la presenza della muffa sporificata (fig. 22 *A e B* e 24).

Anche facendo germinare i semi su estratti di pianta ammalata, la Zoja constatò l'immunizzazione delle piantine germogliate ed ebbe pure risultati positivi in alcune esperienze preliminari nelle quali inoculava a piante in piena terra, particelle di micelio bollito e, dopo qualche giorno, di micelio vivo e virulento.

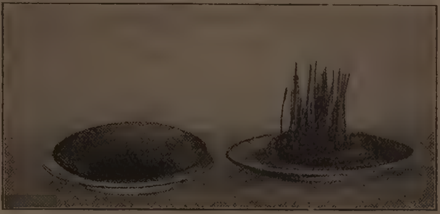


Fig. 22 *A* – A sinistra: piantine di frumento nate su succo di cultura di *Helminthosporium*. A destra: piantine controllo della stessa età (da Zoja).

Sieden e Trieschmann, nel 1926 comunicarono un interessante risultato da loro ottenuto nella lotta contro il cancro delle patate. Preparato una sorta di vaccino facendo un estratto acquoso di tuberi affetti dal cancro, lo filtravano quindi per candela. Mediante una tecnica simile a quella dal Carbone chiamata *del tassello*, introducevano 1 cc. del filtrato entro tuberi sani. Dopo quindici giorni seminavano i tuberi così trattati insieme ad altri di controllo, in un campo infetto. Al raccolto gli autori hanno notato che i tuberi trattati diedero piante quasi

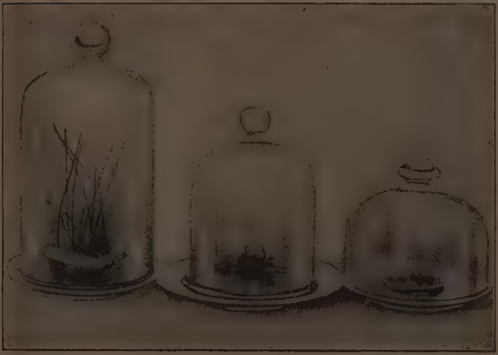


Fig. 22 *B* – Da destra a sinistra: Piantine di frumento nate su succo di piante ammalate. Idem, trasportate in acqua. Controlli della stessa età (da Zoja).

immuni, mentre quelle di controllo erano abbondantemente invase dal cancro.

Altri fatti rapportabili alla vaccinazione delle piante, sono stati studiati da Hursh, per quanto questo autore li abbia condotti più per lo studio dei tossici dei funghi parassiti e della loro azione, che nei riguardi immunitarî. Immergendo fusti e foglie di cavolo, frumento, cavolfiore, ecc. in estratti filtrati per candela di *Leptosphaeria herpotrichoides*, *Fusarium vasifectum*, *Fusarium oxysporium*, i fusti e le foglie appassiscono rapidamente dando segni evidenti di sofferenza; tolti dagli estratti e posti in acqua, dopo qualche tempo riprendono l'aspetto normale e così rimangono o appaiono solo leggermente sofferenti allorquando sono posti nuovamente in estratti dei funghi patogeni.

Nel 1925 ho fatto anch'io una serie di esperienze di vaccinazione su pezzi di tubero di patata infettati con un ceppo di *B. Mesentericus* fortemente patogeno per i tuberi stessi su cui dava una gangrena molle di rapida diffusione e che venne isolato appunto da una simile forma trovata spontanea. Prima di tutto volli vedere se questo germe attraversando la buccia riusciva ad infettare anche dei tuberi integri, e delle fette di patate intaccando lo strato suberifico secondario che si forma lasciandole a 30° C. per 24 ore. Ripetute prove in questo senso diedero sempre risultato negativo. In nessun caso, anche infettando abbondantemente la superficie suberificata e inumidendola, riuscii mai a farvi attecchire l'infezione.

A questo punto mi si presentò la necessità di attenuare la virulenza del germe onde tentare delle vaccinazioni alle fette di tubero. A questo scopo tentai varie strade. Coltivato in brodo comune il mio germe aggiunsi dosi crescenti di alcali (idrato di sodio), di acidi (acido formico, acido fenico, acido lattico), e tentai pure l'azione del calore (40-45° C.) e l'invecchiamento.

Di tutti i sistemi provati, quelli che mi diedero più notevoli e costanti risultati furono l'invecchiamento in brodo cultura a 37° C. e l'aggiunta di acido lattico progressivamente da 0,01 a 0,1 cmc. su 10 cmc. di brodocultura. Con questi ceppi praticai tutta una lunga serie di esperienze. La prima di esse venne eseguita con delle sospensioni del germe in acqua, scaldate a 60° C. e a 100° C. per un minuto. Le fette di patata così trattate suberificarono perfettamente in 24 ore; allora asportato per pochi mm. quadrati lo strato di subero ripetei in questo punto l'infezione con un ceppo virulento ponendo poi le fette di tubero entro scatole Petri con lateralmente un bioccolo di cotone inumidito onde impedire il troppo rapido asciugamento della superficie. Dopo 24 ore queste erano letteralmente invase dall'infezione che si era estesa anche alla zona suberificata.

Esperimentai con ceppi di brodo-culture acide e con quelle invecchiate, constatando che cinque di essi avevano perso quasi totalmente la loro virulenza, con questi vennero fatte vaccinazioni su serie di fette di patata provenienti dal medesimo tubero, e avendo constatato dopo 24 ore la perfetta suberificazione di esse le infettai con ceppi virulenti previa rottura per pochi mm. della cuticola suberificata.

Su cinque fette trattate con cinque diversi ceppi attenuati, due mi diedero un'infezione pressochè uguale a quella della fetta controllo, tre invece mostrarono un processo disintegrativo assai modesto, di pochi mm. quadrati di estensione, ad andamento secco, ben diverso dalle infezioni umide, mucilaginose, tipiche del ceppo virulento che si era adoperato. La infezione si presentava come circoscritta da una zona oscura che la separava dal rimanente della fetta. Una di queste, lasciata per molte settimane a sè, non mostrò mai un progredire dell'infezione, pareva anzi che la fetta tendesse ad espellere da sè la zona infetta, ed a guarire la qual cosa non avvenne invece, forse perchè la mancata sterilità dell'ambiente non impedì che altri germi, sopratutto muffe saprofite, invadessero pure la fetta in questione.

Sostituiti con altri i due ceppi che non diedero risultati, ripetei ancora questa esperienza con uguali modalità. Le infezioni ottenute con ceppi virulenti erano assai più piccole (1-2-3 millimetri) sulle fette prima vaccinate rispetto a quelle delle fette controllo, che se pure non presentavano le imponenti infezioni dei primi giorni (presumibilmente i ripetuti passaggi in agar avevano attenuato anche il ceppo originario) tuttavia erano sempre più nettamente attaccate.

Onde realizzare delle condizioni più rigorose di eguaglianza del soggetto ed escludere il più possibile cause di errore dovute alla natura particolare delle fette studiate, la tecnica dell'esperienza venne in seguito modificata. Ogni fetta serviva ad un tempo da soggetto da vaccinare e da controllo. Scelte delle grosse patate, ne venivano tagliate ampie sezioni sulle quali praticavo due incavità di eguale grandezza (1 cm. per 2), e profondità (0,5 cm.). In una versavo qualche goccia della brodo-cultura attenuata, nell'altra qualche goccia di brodo comune sterile. Poste in scatole Petri ed a 30° C., dopo 24 ore le due cavità, perfettamente integre, venivano grattate per pochi millimetri quadrati onde rompere lo strato suberificato ma avendo cura però di non asportare il tessuto dilaniato e ciò nella tema di asportare con esso l'eventuale sostanza difensiva formata. Nelle due cavità passavo quindi l'ansa carica di cultura virulenta. Dopo altre 24 ore di termostato si faceva una prima osservazione. I risultati delle ripetute prove in questo senso e con diversi ceppi attenuati, non furono mai costanti, ma svariate volte ho potuto notare una differenza ben netta fra la cavità vaccinata e quella controllo. Questa si presentava completamente invasa dall'infezione nella sua tipica forma umida e mucillaginosa, mentre quella vaccinata era quasi completamente integra o solo lievemente attaccata da una forma secca e circoscritta a una zona piccolissima.

Questi non numerosi ma abbastanza ripetuti casi di minore recettività, collegati con i risultati ottenuti nelle serie di esperienze precedenti, fatte su fette distinte, mi permettono di concludere che essi non furono puramente casi fortuiti, ma che realmente la difesa del tessuto vivo della patata era stata esaltata dalla prima lievissima infezione fatta subire.

Nel 1928 eseguii un'altra serie di ricerche tentando di operare la vaccinazione di semi di *Pisum sativum* contro la *Blepharospora cambivora* PETRI.

In tre piastre Petri contenenti un piccolo strato di sabbia quarzosa e contrassegnate con lettere X, Y, e Z, distribuii: nella X un po' di estratto acquoso di micelio di *Bl. camb.* non ulteriormente trattato; nella Y un po' estratto di *Bl. camb.* tenuto per 30′ a 60° C.; nella Z l'estratto medesimo scaldato a 100° C. per 2′. Una quarta piastra, con sabbia inumidita con sola acqua servì come controllo. In tutte e quattro vennero posti alcuni semi di piselli già germinati da alcuni giorni, su sabbia inumidita. I semi continuavano a crescere salvo quelli della piastra X prontamente invasi ed uccisi dalla muffa. Dopo otto giorni tutte le piantine vennero messe in quattro vasetti di terra e tenute in laboratorio. Dopo altri otto giorni tutte le piantine vennero infettate con *Bleph. camb.* viva. Pochi giorni dopo, visto che tutte le ferite prodotte con l'inoculazione erano prontamente guarite, venne ripetuta l'infezione; circa una settimana dopo tutte le piantine controllo erano morte, mentre quelle dei vasi Y e Z erano ancora vive per quanto mostrassero segni di sofferenza. Al punto d'inoculazione si notava una ferita larga, scura, profonda e la parte di pianta al di sopra di essa esile e filante. Venti giorni dopo tutte le piantine erano morte.

Visti questi risultati, ho ripetuto l'esperienza cercando anche di studiare l'esistenza di un'eventuale specificità. Fatti germinare su sabbia inumidita dei semi di piselli, vennero poi portati su tre grandi piastre contenenti un sottile strato di sabbia. Nella prima con estratto di *Bleph.* (v. pag. 103), nella seconda con estratto preparato analogamente da *Aspergillus Oryzae* e nella terza con un poco d'acqua da servire come piastra di controllo. Già dopo 24 ore e maggiormente dopo due o tre giorni, si osservò che le radicette dei piselli vaccinati con *Bleph. camb.* imbrunivano mentre quelle dei semi su *Asp. Oryzae* erano leggerissimamente ingiallite e quelle di controllo perfettamente candide. L'imbrunimento delle radici vaccinate aumentava ancora nei giorni successivi. Dopo otto giorni una grande bacinella contenente sabbia in strato di 3 cm. venne divisa in tre parti nelle quali si trasportarono 15 piantine vaccinate con *Bleph. camb.*, 15 con *Oryzae*, e 15 di controllo; ogni giorno tutte le piantine venivano inumidite con soluzione nutritiva di Knop. Due giorni appresso si osservava che gli apici delle radici vaccinate ed imbrunite dalla *Bleph. camb.*, erano morti ed essiccati, altri filamenti radicali erano sorti lateralmente.

Dopo altre 24 ore si infettarono tutte le piante con *Bleph. camb.* viva virulenta, alla base della piumetta quasi sull'inserzione dei cotiledoni. Dopo due giorni osservando con microscopio a mano a 60 × si osservava un leggero sviluppo della muffa sulla ferita delle piante vaccinate con *Bleph. camb.*, e con *Asp. Oryzae*, e non su quelle controllo. Tutte le piantine in esperienza presentarono segni di sofferenza, più accentuati nel controllo che nelle piante vaccinate. Dopo 10 giorni dall'infezione cominciarono a morire le prime piante di controllo e quelle del vaccino Oryzae.

Nei giorni seguenti continuarono le morti che sono raccolte nello specchietto seguente:

Data	Piante morte		
	Vaccino Bleph. Cambivora	Vaccino Asp. Oryzae	Controllo
10 Novembre	–	3	4
11 »	3	–	–
14 »	1	4	4
16 »	–	3	4
17 »	3	2	–
19 »	–	3	3
20 »	1	–	–
27 »	2	–	–
29 »	3	–	–
	13	15	15

Le altre due piante vaccinate con *Bleph. camb.* sono morte esse pure pochi giorni dopo.

I risultati di questa esperienza, mentre parlano in favore di una specificità nell'azione immunizzante (ed infatti le 15 piante trattate con estratto di *Asp. Oryzae* si sono comportate come quelle controllo), mostrano del pari che l'azione difensiva dovuta al vaccino ha una durata piuttosto breve, che si potrebbe forse spiegare con le anormali condizioni di vita delle piantine tenute su sabbia ed in locale chiuso.

La Benigni nel 1927 studiando l'*Ustilago Maydis,* volle tentare anche prove di immunizzazione di semi germinati di mais. Partendo dalla constatazione, già ricordata nel precedente capitolo, che le clamidospore della *Ustilago* germinano nei succhi di piantine suscettibili alla malattia, la Benigni fece assorbire a piantine di mais di varietà suscettibili, dell'acqua e del liquido di Raulin nei quali erano state macerate delle clamidospore del parassita. Come conseguenza di questo assorbimento, le piantine apparivano sofferenti e presentavano uno sviluppo più stentato rispetto a quelle di controllo messe in sola acqua od in liquido di Raulin puro, le quali ultime pur essendo più rigogliose di quelle trattate con i liquidi di macerazione, erano meno sviluppate del controllo su acqua pura. Dopo un paio di giorni tutte le piantine venivano passate in terra dove le differenze di sviluppo sopra notate a mano a mano si facevano meno nette.

Dopo qualche giorno prelevati dei campioni da ciascun lotto la Benigni ne spremeva il succo nel quale poneva a germinare delle clamidospore provenienti da stipiti diversi di *Ustilago*, osservando poi in goccia pendente il risultato.

Nelle varie osservazioni fatte nello spazio di dieci giorni, la autrice notò costantemente la mancata o incompleta germinazione delle spore nei succhi delle piantine che avevano assorbito liquidi, diciamo così, vaccinanti rispetto ai controlli. Però in esami fatti nei quindici giorni successivi, questa differenza si fece sempre più leggera fino a diventare quasi non rilevabile, per cui l'autrice ne desume che se il fenomeno da lei constatato si può interpretare come fatto immunitario, questo stato dura soltanto quanto lo stato patologico indotto nelle piantine dalle sostanze tossiche assorbite.

Per completare questa rassegna dei fenomeni immunitari fino ad ora constatati nelle piante, non mi rimane che fermarmi sul contributo portato anche in questo campo dal Nobécourt con la sua monografia del 1928.

Egli oltre a ripetere con lievi modificazioni di tecnica le esperienze di Bernard sul *Loroglossum hircinum* e vari endofiti, realizzò anche l'immunizzazione di fagioli contro la *Botrytis cinerea* e di fave contro il *B. carotovorus*. Ci si può rammaricare solo che questo autore si sia accontentato di troppo pochi esemplari nelle sue esperienze (qualche volta anche una sola pianta, al massimo otto) poichè in queste ricerche, data la quantità delle cause di errore, solo il numero e le percentuali, possono dare degli indizi di una certa sicurezza. Tuttavia anche queste esperienze hanno un notevole interesse.

Per immunizzare i fagioli, Nobécourt mette il seme di queste piante in matracci con terra sterile e li innaffia dapprima con liquido di culture di *Botrytis* diluito con acqua, e poi con diluizioni sempre minori, finchè dopo otto giorni usa il liquido puro. Dopo circa dieci giorni di questi trattamenti, durante i quali il germoglio cresce, le radici assorbono il liquido raccolto al fondo del matraccio, e non mostrano segni di sofferenza, NOBÉCOURT li infetta contemporaneamente ad altre piantine non trattate. Dopo un giorno o due dall'inoculazione, la muffa pare abbia attecchito sulla pianta vaccinata come su quella sana, ma dopo una ventina di giorni, mentre le piante controllo sono invase dalla muffa ed i loro tessuti appaiono profondamente disgregati, quelle vaccinate appaiono perfettamente guarite e la ferita prodotta con l'inoculazione quasi completamente cicatrizzata.

Per immunizzare le fave con *B. carotovorus*, NOBÉCOURT introduce nel cavo midollare di queste piante quantità variabili da 0,25 cmc. a 1 cmc. di filtrato di brodocultura di *B. carotovorus*. Dopo quindici giorni infetta con la quantità fissa di 0,50 cmc. di cultura in brodo del germe, la quale è sufficiente ad uccidere in 36-48 ore la pianta normale di fave alla temperatura di 16-18° C. Dopo questo trattamento constata che a differenza delle piante controllo, i cui tessuti appaiono tosto in preda al disfacimento attorno al punto d'iniezione, le piante vaccinate resistono bene alla infezione, e dopo la caduta di qualche foglia, riprendono l'aspetto normale.

§ 4. – EFFETTO DELLA VACCINAZIONE.

L'azione protettiva della vaccinazione si manifesta con una efficacia ed una durata diversa a seconda delle esperienze dei vari autori.

Una completa immunità alla reinfezione, si verificò nelle esperienze di BEAUVERIE sulle begonie, in quelle di BERNARD, MAGROU, NOBÉCOURT sulle orchidee; ed in quelle di NOBÉCOURT sul fagiolo di Soisson, e sulla fava.

Nelle mie esperienze sulle patate, come ho già detto, è stato constatato non uno stato immunitario assoluto ma una maggiore resistenza all'infezione, ed identico risultato ottenni con la vaccinazione dei piselli. Un grado notevole di maggiore resistenza, constatarono SIEDEN e TRIESCHMANN.

La durata dello stato immunitario per solito non venne studiata dai vari autori, i quali hanno quasi sempre interrotto le esperienze alla morte dei controlli o poco dopo.

La Zoja ne ha constatata l'esistenza ancora un mese dopo l'infezione, mentre dopo sei mesi ha constatato che anche le piantine vaccinate, che però erano state sradicate dal campo dopo l'essiccamento, erano invase dal parassita.

La Benigni constatò una durata dell'immunità superiore ad una settimana, inferiore a tre.

Circa la specificità della vaccinazione, ben poco è stato fatto. Bernard, Magrou e Nobécourt si sono occupati appena di passaggio di questo problema, pur pronunciandosi a favore della sua esistenza. Nelle mie esperienze d'immunizzazione dei piselli già ricordate, ho appena tentato di sondare il problema, trattando con vaccino preparato da *Asp. Oryzae* un lotto di piantine. Anche i miei risultati sono stati in favore all'esistenza di un certo grado di specificità, infatti le piantine così trattate si sono comportate come quelle controllo.

Qualche autore ha tentato pure delle ricerche sulle proprietà delle sostanze vaccinanti. Secondo Ray esse sarebbero precipitabili con alcool e ridissolubili in acqua. Sempre secondo Ray esse sarebbero fortemente termolabili poichè a soli 40° C. si altererebbero; quelle studiate dalla Zoja invece, resistevano a 50-55° C. ed erano distrutte a bagno-maria bollente per un'ora. Nelle mie esperienze sui piselli le sostanze immunizzanti hanno mostrato di resistere a 60° C. per mezz'ora.

Hursh ha trovato che le sostanze provocanti l'appassimento delle piante recise sono di varia natura: talvolta dializzabili talaltra no; non sempre sono precipitate dall'alcool. Le più attive però sono dializzabili, non precipitabili dall'alcool, assorbite dal nero animale e termolabili.

§ 5. – MECCANISMO DELLA VACCINAZIONE.

Come risultato visibile del trattamento, quasi tutti gli autori notano dei segni di sofferenza nelle piante vaccinate. Sofferenza che si manifesta con crescita meno rigogliosa dei controlli, con appassimento delle foglie o con imbrunimento delle radici che assorbivano i liquidi vaccinanti. In seguito a questo imbrunimento si è constatata alcune volte la morte degli apici delle radici le quali emettevano poco dopo radici avventizie laterali.

La ZOJA mette in evidenza, come il potere tossico ed il potere immunizzante abbiano comportamento uguale nei riguardi della temperatura, essendo entrambi distrutti dall'ebollizione, e resistendo invece a 50-55° C. per un'ora. Quest'autrice ha osservato pure nelle piante vaccinate, e non ancora reinfettate, una ipertrofia nucleare di alcune cellule del parenchima, che non aveva constatato nelle piante controllo, nè in quelle trattate con vaccino bollito, prima che avvenisse l'invasione parassitaria. In queste ultime però l'ipertrofia nucleare seguente l'infezione, si presentava sempre meno forte (fig. 23).

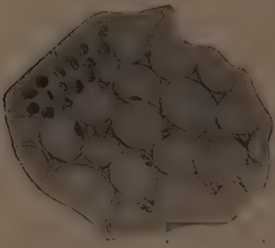


Fig. 23 – Nuclei ipertrofici in piantina di frumento immunizzata, prima dell'infezione sperimentale (da ZOJA).

Il meccanismo della resistenza acquisita dalle piante per trattamento con vaccini, è suscettibile di vari tentativi di spiegazione.

NOBÉCOURT crede che la resistenza dei fagioli vaccinati alla *Botrytis cinerea* si possa spiegare con la produzione da parte della pianta di antitossine capaci di neutralizzare l'azione disintegrante delle secrezioni della *Botrytis* ed eguale spiegazione egli avanza circa l'immunizzazione delle fave rispetto al *B. carotovorus*.

La ZOJA è l'unica autrice che abbia tentato di studiare sperimentalmente il problema. L'ipotesi che il fungo patogeno non possa più attecchire sulla pianta vaccinata perchè questa contiene sostanze antagoniste assorbite col vaccino, venne dimostrata non sostenibile dal fatto che nel vaccino possono germinare le spore ed il parassita può svilupparsi perfettamente. Facendo germinare e crescere in soluzione di glucosio alcune spore di parassita, lateralmente e a poca distanza da una piantina vaccinata, la ZOJA vide che questa era presto raggiunta dagli ifi micelici sviluppati il che dimostrava che la pianta non aveva perso lo stimolo chemiotattico rispetto al fungo. L'autrice viene perciò alla conclusione che la resistenza acquisita da parte della pianta, in seguito al trattamento vaccinale, è una vera azione difensiva attiva dei tessuti per mezzo di principî contrari al parassita, provocata da principi attivî del fungo entro la pianta ospite (fig. 24 *A* e *B*).

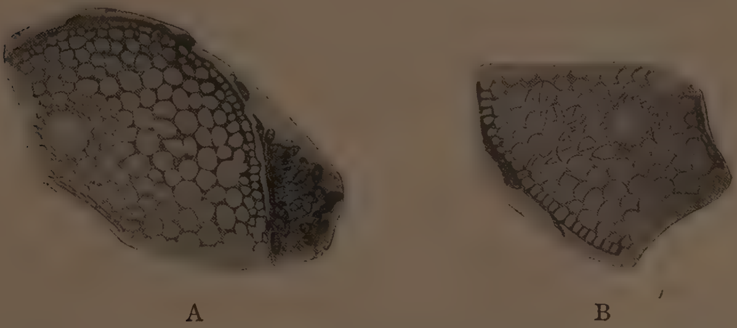


Fig. 24 – *A*, Sezione trasversale di stelo di piantina di frumento immunizzata e successivamente infettata. Non vi è traccia di infezione interna, solo esternamente si osserva la fruttificazione di *Helminthosporium*. – *B*, Sezione trasversale di piantina di frumento, controllo nell'esperienza, in seguito all'infezione si osserva il micelio intracellulare di *Helminthosporium* (da Zoja).

La Zoja ha inoltre osservato nell'interno delle cellule delle piante immunizzate, dopo la infezione, delle masserelle amorfe che si potrebbero forse interpretare come forme fagocitarie analoghe a quelle descritte da Bernard e Magrou nelle piante a micorize. Modificazioni nucleari e fatti fagocitari sono largamente descritti da vari autori in casi di simbiosi e di parassitismo come ho ricordato nel capitolo precedente; questi descritti dalla Zoja stanno a dimostrare comunque una reazione cellulare al trattamento vaccinale, reazione che potrebbe in parte spiegare il meccanismo della vaccinazione come un esaltamento della immunità naturale, in quanto le cellule che hanno reagito al vaccino possono più facilmente ed energicamente difendersi dalla penetrazione del micelio del parassita virulento.

Questo ordine di idee ci può fare pensare che l'immunità acquisita sia essenzialmente di natura istogena, ma le esperienze di Bernard, Magrou e Nobécourt pongono troppo in evidenza il fattore umorale nell'immunità congenita come in quella acquisita, per permetterci questa affermazione. Ond'è che pur restando il problema sempre aperto alla indagine ed alla discussione tuttavia se una conclusione si deve trarre, mi pare logico questa tenga conto dei due fattori: l'istogeno e l'umorale come avviene per l'immunità congenita ed acquisita degli animali. Probabilmente a seconda dei casi e a seconda delle condizioni particolari studiate, prevarrà or l'uno or l'altro dei due meccanismi.

§ 6. – Tecnica della vaccinazione.

Stato di sviluppo delle piante trattate. — La vaccinazione è stata praticata sui semi non germinati, o in via di germinazione nelle esperienze di Bernard, Magrou, Zoja, nelle mie sui piselli e in quelle di Nobécourt sui fagioli. Agirono invece su giovani piantine il Beauverie, Ray e Nobécourt nelle esperienze sulle fave. Nelle altre esperienze prima ricordate gli autori hanno trattato pezzi di tuberi o di bulbi.

Materiale vaccinante. — I materiali usati come vaccini sono di varia preparazione. Alcuni autori hanno usato culture di virulenza attenuata, trattando in modi diversi le culture dei parassiti. Beauverie ha usato l'invecchiamento, ed io oltre all'invecchiamento ho ottenuto buoni risultati dall'aggiunta di acido lattico a dosi variabili. Ray ha agito con temperature alte e basse, mentre Beauverie ottenne, come già dissi, l'attenuazione della *Botrytis cinerea* mediante l'azione della temperatura e dell'umidità sì da modificarne la struttura dei conidi ed avere così una forma intermedia tra la patogena e la saprofita che raramente si trova in natura. Sieden e Trieschmann prepararono i vaccini estraendo con acqua pezzi di tuberi di patate infette da cancro e preventivamente lasciati esposti al gelo. Quindi filtravano per candela il liquido ottenuto.

La Zoja preparò i suoi vaccini uccidendo con il calore i ceppi virulenti o trattandone gli estratti a 55° C. per un'ora, oppure a

60° C. per mezz'ora, o triturando addirittura le piante ammalate. Per preparare il vaccino usai nelle mie esperienze l'azione di vapori d'etere per 24 ore su culture del parassita, indi trituravo il micelio con sabbia quarzosa. NOBÉCOURT ed HURSH hanno invece sempre usato come materiale vaccinante le brodo-culture filtrate per candela Chamberland. RAY infine usò pure acqua di lavaggio del precipitato alcoolico di ricche culture dei germi parassiti.

Somministrazione dei vaccini. — La somministrazione dei vaccini, quando il trattamento era eseguito sui semi, veniva fatta per assorbimento, sia durante il rigonfiamento di questi, sia attraverso i peli radicali. In questi casi, in ambiente sterile, i semi vengon posti su materiale poroso ed assorbente (sabbia, cotone, carta bibula, terra) che è stato preventivamente imbevuto del liquido vaccinante. Il BEAUVERIE vaccinò le giovani begonie per assorbimento radicale, ma negli altri casi trattandosi di piantine, gli autori hanno introdotto in essi il materiale vaccinante mediante puntura, con aghi o con piccoli bisturì. NOBÉCOURT per introdurre il filtrato vaccinante nel cavo midollare delle fave, praticava un foro attraverso il fusto, in modo da permettere l'uscita dell'aria, poi mediante una siringa con sottile ago introduceva il liquido. Otturato il foro superiore mediante collodio, toglieva l'ago e quindi otturava il foro inferiore lasciato da questo. SIEDEN e TRIESCHMANN praticavano mediante un foratappi un foro nei tuberi di patata, introducevano il filtrato vaccinante, e quindi chiudevano il foro con il tassello di tubero prima levato e completavano la chiusura mediante collodio.

La durata del trattamento vaccinale è varia a seconda delle modalità seguite. Solitamente dal trattamento all'infezione sperimentale con i ceppi virulenti, passano da due a dieci giorni, a seconda se si fa un secondo trattamento vaccinale oppure se le somministrazioni di vaccini, come nelle esperienze di NOBÉCOURT, sono ripetute anche per otto giorni.

Le infezioni con ceppi virulenti sono state fatte dagli autori mediante punture con aghi infetti, o per deposizione con ansa di platino di patina batterica, o infine per innaffio con sospensioni di germi virulenti a seconda delle modalità delle esperienze.

§ 7. – IMMUNITÀ ACQUISITA PASSIVA.

Fra i tentativi escogitati fino ad ora per aumentare la resistenza delle piante ai parassiti, ve ne sono stati alcuni che furono paragonati alla sieroterapia animale, forse perchè con questa avevano in comune l'azione, diciamo così, interna a differenza dei soliti trattamenti anticrittogamici che sono sempre esterni. Il concetto informatore di questi tentativi più o meno riusciti, e che più giustamente si potrebbero chiamare di chemioterapia interna, era quello di introdurre entro le piante delle sostanze chimiche innocue per queste e tossiche per i parassiti. Questa introduzione poteva aversi sia attraverso alle radici, per assorbimento naturale di sostanze cosparse nel terreno, sia con introduzione nel legno stesso della pianta a mezzo di speciali apparecchi, sia ancora troncando qualche grossa radice e facendola pescare nel liquido curativo.

Della tecnica seguita in queste ricerche sarà fatto ancora e più ampio cenno in altro capitolo, comunque si possono avere su questo argomento larghi particolari nella bella monografia del MÜLLER. Io ho voluto ricordarle solo perchè, come ho già detto, taluno ha voluto vedere in queste ricerche tentativi di sieroterapia. Mentre meriterebbero questo nome soltanto delle ricerche di immunizzazione, o meglio di cura di forme infettive in atto, che utilizzassero umori di piante guarite dalla stessa forma morbosa. In questo solo caso potremmo avere realizzato nel campo vegetale un parallelo esatto della sieroterapia animale. Tentativi di questo genere non credo se ne siano ancora fatti.

In quelle esperienze, come quella della ZOJA, nelle quali si è utilizzato l'estratto della pianta malata per vaccinare le sane, si saranno forse introdotte in queste delle sostanze difensive formate da quelle sotto l'azione del parassita, ma essenzialmente l'estratto della pianta ammalata rappresentava una sorta di coltura *in vivo* del parassita, e secondo questo criterio venne usato.

Forse maggiormente si avvicina ad una sieroterapia vegetale la mia esperienza di resistenza alla reinfezione del geranio tumefatto che ho già citato in un paragrafo precedente, e nella quale la parte del ramo da infettare era unita alla parte portante tumore, da un tubetto di vetro ripieno d'acqua. Ma sul valore di questa esperienza potrei ripetere qui le riserve allora fatte.

La possibilità di una sieroterapia delle piante è negata da Blackmann secondo cui « *anche se i sieri potessero venire preparati ci sarebbe poi la difficoltà della distribuzione di tali sostanze, probabilmente di natura colloidale, in ogni parte della pianta, causa la mancanza di un sistema circolatorio. E pure se questa distribuzione venisse compiuta, ci sarebbe l'ulteriore difficoltà della costante condizione embrionale della pianta. Essa produce continuamente nuovi organi, cosicchè qualunque sieroterapia, per essere efficace, dovrebbe non solo dotare l'organismo vegetale dell'immunità acquisita, ma anche di una immunità che possa essere trasmessa agli organi che nuovamente se ne sviluppano* ».

Ma che le sostanze colloidali in genere ed i sieri animali in particolare possano passare attraverso i tessuti vegetali e diffondervisi, senza perdere le loro proprietà, è dimostrato largamente nei capitoli seguenti. Mentre una certa azione curativa e preventiva essi potrebbero esplicare sui vegetali, secondo una mia esperienza del 1925 che, a quanto mi consta, rappresenta il primo tentativo di una vera sieroterapia vegetale.

In essa si è usato siero immune d'animale, ma la sua azione positiva è comunque legata ad anticorpi specifici. Iniettando in conigli dosi crescenti, dapprima sotto cute, e quindi endovena, di sospensioni omogenee di *B. tumefaciens* in soluzione fisiologica, ottenni un siero agglutinante il *B. tumefaciens* a notevole titolo (almeno fino a 1 : 50.000).

Da una pianta di geranio separai tre rami portanti grossi tumori per inoculazione sperimentale di otto mesi prima, e dopo aver praticato una disinfezione della parte inferiore di essi mediante lavaggio in acqua ossigenata per 2-3 minuti ed averli di poi ripetutamente lavati in acqua distillata sterile, ne posi due in matracci contenenti siero antitumefaciens all'1% in acqua comune sterile; ed il terzo semplicemente in acqua comune sterile.

Dopo una diecina di giorni i tumori dei rami in acqua più siero apparivano già con la superficie secca, e dopo un mese circa, erano raggrinziti secchi, rimpiccioliti, mentre il tumore del ramo in acqua appariva sempre verde, turgido e vivo (vedi fig. 25). Solo dopo un paio di mesi questo terzo tumore cominciò ad essiccare, tuttavia nettamente si distingueva ancora dagli altri due rami trattati.

Contemporaneamente a questa esperienza avevo posto due rami freschi, disinfettati con acqua ossigenata alla base, con eguale modalità degli altri, entro matracci: uno con acqua comune sterile, l'altro con siero antitumefaciens all'1% in acqua comune sterile. Entrambi poi erano stati infettati in diversi punti con ago bagnato di sospensione di coltura fresca di *B. tumefaciens*. Dopo circa un mese, mentre il primo ramo (pescante in siero antitumefaciens) aveva perfettamente cicatrizzato i forellini prodotti dall'ago, quello controllo, pescante in sola acqua comune, presentava le caratteristiche spaccature verticali lunghe 5-6 mm. in corrispondenza dei punti d'infezione, mostrando il tessuto del tumore erompere attraverso la ferita. Non si potè tenerlo ulteriormente in osservazione perchè essendo venuta a mancare la sterilità dell'acqua, la parte immersa del ramo andò imputridendo.

Circa la seconda obiezione del BLACKMANN, non mi pare che essa abbia un grande valore. Infatti il continuo sviluppo dei tessuti vegetali non porterebbe che ad una maggiore diluizione del siero, il quale potrebbe sempre venire nuovamente somministrato, qualora se ne mostrasse la necessità, oppure usato a titolo più alto fin dalla prima somministrazione. La sua distribuzione nei tessuti ed organi nuovi non può trovare difficoltà speciali giacchè tra i tessuti vecchi e quelli via via formantisi, si realizza ininterrottamente la continuità dei vasi.

D'altro canto anche in immunologia animale l'azione curativa dei sieri è temporanea, data la fisiologica eliminazione degli anticorpi somministrati con i sieri, ma ciò non impedisce che la sieroterapia ottenga i buoni successi che tutti sanno, quando si regoli opportunamente la somministrazione del siero (che per solito è più di una) e la quantità delle unità immunizzanti.

Anche per la sieroterapia adunque, sebbene il campo sia quasi completamente vergine di studi, non mi pare che obiezioni insormontabili debbano tenere lontani gli studiosi. È quindi augurabile che anche questo capitolo della fitoimmunità abbia ad attrarre altri ricercatori.

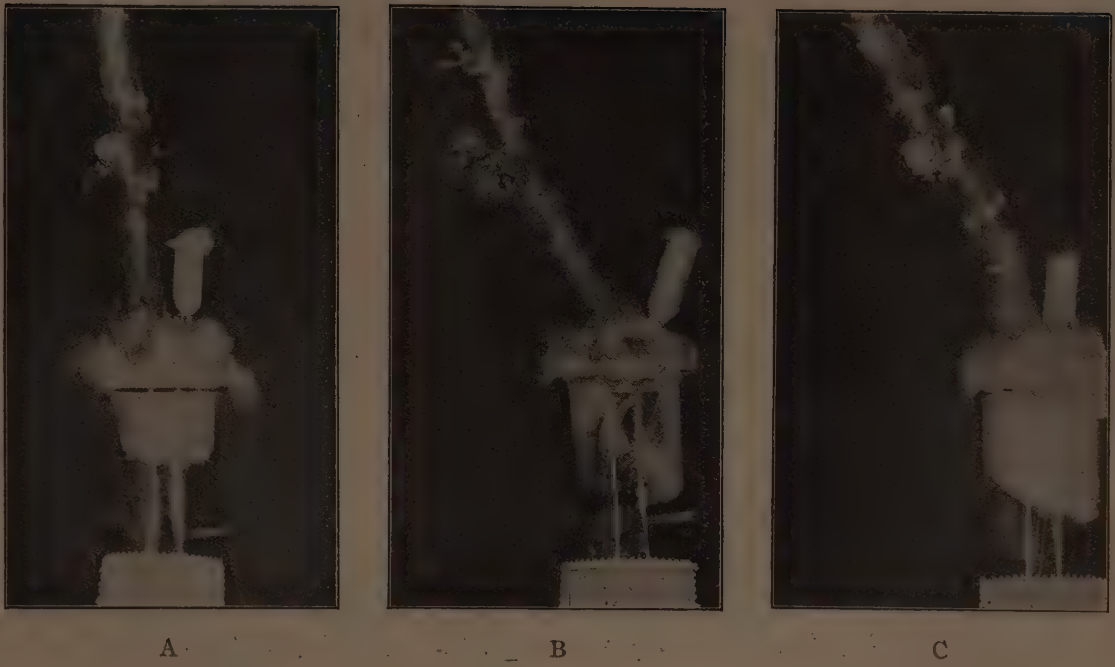


Fig. 25 – *A*, Ramo di geranio con tumore posto in vaso con siero antitumefaciens. Si nota il tumore ridotto e raggrinzito. *B*, Altro ramo di geranio nelle stesse condizioni. *C*, Controllo: ramo analogo in acqua.

§ 8. – LA BATTERIOFAGIA.

Una forma modernissima di terapia usata per alcune forme infettive dell'uomo, si basa sull'applicazione del cosidetto *batteriofago*, e poichè questo ha stretti rapporti con i fenomeni immunitari degli animali e delle piante, ritengo opportuno farne un breve cenno in questo capitolo.

Studiando l'azione dei filtrati di feci di infermi affetti da dissenteria bacillare, sui germi causanti la malattia, F. D'HERELLE nel 1917 mise in evidenza nel suddetto filtrato un principio antagonista dei germi stessi, che era capace di distruggerli in breve tempo, rendendo trasparenti le brodoculture di questi germi in vigoroso sviluppo. Questa proprietà singolare è attribuita dal D'HERELLE non già a sostanze chimiche od a fermenti direttamente od indirettamente prodotte dai germi, ma ad organismi vivi, ad *ultravirus* capaci di attaccare e distruggere i germi della dissenteria.

A dire il vero già molto prima erano stati osservati e descritti fenomeni analoghi, e fin dal 1891 WERNER von SIEMENS per spiegare un fenomeno analogo da lui studiato, aveva emesso l'ipotesi dell'esistenza di germi ultramicroscopici e filtrabili per candela, capaci di parassitare i microbi infettivi, ipotesi che evidentemente si identifica con le asserzioni di D'HERELLE.

HANKIN nel 1896 aveva constatato che le acque del Gange posseggono un potere antisettico marcatissimo per i germi in genere ed in particolare per il vibrione colerigeno, potere che l'acqua conserva anche filtrata per candela e che perde invece con la ebollizione. Secondo ALESSANDRINI questa autodisinfezione delle acque del Gange si potrebbe paragonare all'eguale potere delle acque della Senna studiato dal DUMAS nel 1920 e sarebbe dovuta alla presenza di un principio litico trasmissibile e coltivabile, ovverosia al batteriofago di D'HERELLE.

Non poche altre osservazioni del genere furono fatte prima che D'HERELLE mettesse in evidenza tutta l'importanza teorica e pratica della sua osservazione, ma è solo in seguito alle sue ricerche che gli studi su questo argomento ebbero inizio sistematicamente, e si estesero anche ai germi fitopatogeni, onde si va profilando anche nel campo vegetale la possibilità di farne pratiche applicazioni, come giustamente ha messo in evidenza il SIBILIA.

Prima però di farne cenno, è necessario soffermarci un momento sulla natura e le proprietà del batteriofago. La sua qualità di organismo vivo è dimostrata, secondo D'HERELLE, mediante il passaggio in serie, da cultura a cultura di bacilli dissenterici, aggiungendo di volta in volta qualche goccia del liquido filtrato della cultura precedente che contiene il principio litico. Il batteriofago non risente della legge delle diluizioni, tipica delle sostanze chimiche e degli enzimi non solo, ma nei successivi passaggi oltre che moltiplicarsi manifesta un aumento del potere litico che si rileva nella maggiore rapidità di chiarificazione delle brodo-culture dei bacilli dissenterici.

Altra caratteristica del batteriofago, che secondo ALESSANDRINI sta a dimostrare la sua natura di organismo vivo, è la possibilità che esso ha, di accostumarsi a forti dosi di alcune sostanze antisettiche, ad esempio il fluoruro di sodio, la glicerina, ecc.

In opposizione a questa concezione del fenomeno litico, sono sorte molte teorie che lo interpretano variamente ma che concordano tutte quante, nell'escludere la natura di *ultravirus*. Non è qui il luogo di esaminarle, tanto più che a noi interessa essenzialmente il fatto in sè più che le sue spiegazioni.

Secondo D'HERELLE il batteriofago sarebbe capace di agire indifferentemente su tutti i germi, in altre parole sarebbe dotato di polifagia. Questo autore ha notato come un batteriofago tenuto vivo mediante più di mille passaggi successivi in culture di dissenteria di SHIGA, attaccò il bacillo tifico ed il coli. Egualmente D'HERELLE avrebbe visto un batteriofago attivo per lo stafilococco, possedere una virulenza notevole per il bacillo di Shiga, e poichè fra lo stafilococco e il bacillo di Shiga vi è una forte differenza nella posizione sistematica, la possibilità litica manifestata su questi due germi dal medesimo batteriofago appare a D'HERELLE come un argomento decisivo a favore della sua teoria della unicità del batteriofago polifago, che sarebbe comune ai parassiti dell'uomo e degli animali, e che in ogni caso sarebbe suscettibile di adattamento a tutte le specie batteriche.

Anche questo modo di vedere non è condiviso da tutti gli autori, essendovene alcuni che pensano all'esistenza di vari batteriofagi specifici per i vari germi.

Del batteriofago in fitopatologia si sono per primi occupati Gerretsen e Sack, Gryns e Söhngen i quali lavorando indipendentemente e contemporaneamente un gruppo dall'altro, isolarono un principio litico trasmissibile in serie, dai tubercoli radicali delle leguminose. La tecnica dell'isolamento e la cultura del batteriofago è perfettamente uguale a quella usata da D'Herelle. Si procede come per l'isolamento del *B. radicicola* dai tubercoli, e si filtra quindi per candela una brodo-cultura ottenuta dall'isolamento del germe. Aggiungendo qualche goccia del filtrato ad altre brodoculture del bacillo radicicola se vi è presenza di batteriofago si nota la lisi del germe, lisi che è sempre più evidente a mano a mano che si susseguono i passaggi, il che dimostra che anche nel batteriofago dei microbi patogeni per i vegetali, la cultura in vitro esalta la virulenza.

Oltre che dai tubercoli delle leguminose, il batteriofago è stato isolato dal marciume del cavolo, da quello delle carote, delle patate, dal tumore della barbabietola causato dal *B. tumefaciens*. Oltre che su piante ammalate è stato trovato su parti sane di piante, in terreni ricchi di sostanze organiche, dove è quindi presumibile anche la presenza di una ricca flora batterica; mentre in terreni di bosco e di brughiera, che per la loro acidità posseggono per solito una microflora scarsa, non è stato trovato.

Anche per il batteriofago dei parassiti dei vegetali non è ben chiaro se vi sia una polifagia di un solo ultravirus come D'Herelle sostiene per quelli animali, o se si abbiano più batteriofagi dotati di variabile specificità nella loro azione. Coons e Kotila registrano come un batteriofago isolato da *B. carotovorus* agisca anche verso *B. tumefaciens* e *B. atrosepticus*, più leggermente verso *B. amylovorus* e *B. typhosus*, e sia completamente inattivo verso *B. dysenteriae* Shiga, *B. pullorum*, *B. sanguinarium*. Sembra quindi che realmente i batteriofagi vegetali abbiano una maggiore specificità non solo, ma talvolta anche una virulenza più strettamente di gruppo e di ceppo, come è stato osservato per i principi litici isolati dai noduli di leguminose che non agivano su altri germi della stessa specie ma di origine diversa.

Interessanti esperienze che possono preludere ad eventuali applicazioni pratiche, sono quelle di Coons e Kotila, i quali hanno cosparso le foglie di piante suscettibili al *B. carotovorus* e *B. atrosepticus* come le carote e le patate, con il batteriofago isolato da questi germi e quindi hanno praticato l'infezione sperimentale, senza che questa in molti casi potesse attecchire. Pure contro le infezioni da *B. carotovorus*, questi autori riuscirono a proteggere dei dischi di carote sterili, sulle quali era stato portato preventivamente qualche goccia del batteriofago, mentre i relativi controlli non trattati poco dopo erano in preda al caretteristico disfacimento. Esperimenti analoghi fatti con fette di tubero di patata e *B. atrosepticus* diedero risultati altrettanto netti e positivi.

In altre ricerche si tentò la protezione delle piante mediante aggiunta del batteriofago al terreno direttamente, ma i risultati furono piuttosto dubbi. Da questo complesso di ricerche risulta quale interesse presenti il batteriofago nella fitopatologia e quale importanza possa avere anche dal punto di vista della protezione delle piante, mentre d'altra parte risulta lo stretto legame con i fenomeni immunitari.

Oltre a queste considerazioni applicative è da rilevare l'importanza scientifica in sè della constatazione di un batteriofago nei germi infettivi delle piante, in quanto consente una generalizzazione sulla sua distribuzione in natura e un apprezzamento, sia pure ancora vago, sulla sua funzione nell'equilibrio naturale della microflora.

§ 9. – ANAFILASSI NEI VEGETALI.

Nel capitolo primo è stato illustrato il concetto di anafilassi in zoopatologia, ed è stato detto come si colleghi direttamente con la immunità acquisita. Non mi fermo perciò a rammentarlo e passo ad esaminare l'unico lavoro che metterebbe in evidenza fenomeni analoghi in fitopatologia.

A. Lumière e Couturier avrebbero infatti ottenuto fenomeni anafilattici in foglie di acetosella, in bulbi di giacinto e di cipolle, inoculando dapprima da 1/100 a 1/50 di cmc. di siero di cavallo e dopo quattro settimane da 0,25 a 0,8 cmc. del medesimo siero. Lo *schock* anafilattico determinato avrebbe causato la morte delle piante dopo alcuni giorni.

Di fronte a queste esperienze positive, stanno i risultati di CARBONE, NOBÉCOURT, NOVOA SANTOS e GONZALES CRIADO, e di LONGO e CESARIS-DEMEL, che sono nettamente negativi.

Il primo di questi autori non notò infatti, alcun segno di sofferenza in tuberi di patate ai quali inoculò emazie di montone per tre volte, ad una settimana di distanza tra le inoculazioni. Contemporaneamente NOBÉCOURT ripeteva le esperienze di LUMIÈRE e COUTURIER su bulbi di giacinti, cipolle, foglie di cipolle e fusti di fave non ottenendo mai fenomeni anafilattici. Identici risultati ebbero NOVOA SANTOS e GONZALES CRIADO su *Lilium candidum, Clybia minuta, Calla aethiopica* e *Mimosa pudica* inoculate con siero di bue.

LONGO e CESARIS-DEMEL compirono le più accurate ricerche su questo argomento, operando con giacinti, cipolle, gigli bianchi, *Clivia nobilis, Impatiens sultani*, lupini, begonie, *Iresine herbstii* ed usando come proteina sensibilizzante del siero di cavallo. L'inoculazione di sensibilizzazione era da 0,01 a 0,02 cmc. di siero e quella scatenante di 0,25 cmc., con un periodo di attesa di 32 giorni. In altre esperienze, il periodo di attesa fu di 54 giorni. Tutte le piante studiate non mostrarono il benchè minimo segno di sofferenza, crebbero e fiorirono regolarmente al pari dei controlli.

In un'altra serie di ricerche, LONGO e CESARIS-DEMEL vollero usare un'albumina vegetale come sensibilizzante, e impiegarono la *leucosina*, che è un'albumina dei semi di frumento, usandola a circa l'8% per l'iniezione sensibilizzante e dal 4% per quella scatenante. Questa seconda serie di ricerche venne fatta su piante di tipi diversi: Gimnosperme, Monocotiledoni e Dicotiledoni (Archiclamidee e Metaclamidee) e per ogni specie a diversi gradi di sviluppo e di etá. Anche in tutte queste esperienze i risultati furono assolutamente negativi, onde gli autori concludono che nelle condizioni delle loro ricerche e con la tecnica da loro usata non si ha la possibilità di ottenere fenomeni anafilattici, che resterebbero pertanto caratteristici degli animali.

I risultati positivi di LUMIÈRE e COUTURIER restano così isolati e non confermati. Questi autori segnalano la morte delle loro piante d'esperimento, accompagnata da marciume della parte inoculata con siero, onde giustamente NOBÉCOURT sospetta la presenza di microrganismi patogeni introdotti durante l'inoculazione. A questi sarebbe così imputabile la morte delle piante anzichè al fenomeno anafilattico.

OPERE CITATE

Pag.

83 – Blackmann V. H., *Discussion on some similarities and dissimilarities between plant and animal diseases. With special reference to immunity and virus diseases* (Brit. med. J., 1922, n. 3225).

84 – Gioelli F., *Alcune determinazioni refrattometriche in succhi di piante ammalate* (Atti d. R. Ist. Bot. Univ. Pavia, settembre 1926).

– Vavilov N., *Immunity of plants to infectious diseases* (Accademia Petrovskoe Mosca, 1919).

– Sorauer P., *Handbuch der Pflanzenkrankheiten* (IV ediz., Parey, Berlino).

85 – Bernard N., *Sur la fonction fungicide etc.* (Ann. Sc. Nat. Bot., IX, T. XIV, 1911).

– Magrou J., *Symbiose et tubérisation* (Ann. Sc. Nat. Bot., X, T. III, 1921).

86 – Hiltner L. e Störmer K., *Neue Untersuchungen über die Wurzelknöllchen der Leguminosen und deren Erreger* (Arb. biol. Abt. f. Land- u. Forstwitschaft am K. Gesundheitsamte, 1923).

– Smith E. F., *Bacteria in relation to plant diseases* (Carnegie Inst. Washington D. C., 1911, vol. II, pag. 93).

– Arnaudi C., *Sull'immunità acquisita nei vegetali* (Atti Soc. It. Sc. Nat., 1925, vol. 64).

88 – Nobecourt P., *Contribution à l'étude de l'immunité chez les végétaux* (Baillier, Tunis, 1928).

– Beauverie F., *Essais d'immunisation des végétaux contre les maladies cryptogamiques* (C. R. Acad. des sciences, 1901, vol. 133, pag. 107).

89 – Ray Y., *Cultures et formes atténuées des maladies cryptogamiques des végétaux* (C. R. Acad. d. sciences, vol. 133, pag. 307, 1901).

90 – Tischler G. A., *Untersuchungen über die Beeinflussung der Euphorbia cyparissias durch Uromyces Pisi* (Flora, N. F., Bd. IV, Heft 1, 1911).

– Tischler G. A., *Ueber latente Krankheitsphasen nach Uromyces-Infektion bei Euphorbia cyparissias* (Botanische Jahrbücher, Festband für A. Engler, 1914).

– Zoja A., *L'immunità nelle piante* (Atti del R. Istituto Botanico Università di Pavia, 1924).

Pag.

91 – SIEDEN u. TRIESCHMANN, *Ein neuer Weg zur Bekämpfung des Kartoffelkrebses?* (Mitt. a. d. Deutschen landwirtsgesellschaft, 1926, n. 42).

92 – HURSH C. R., *Sur la toxicité des milieux de culture des champignons phytopatogènes vis à vis des plantes* (Revue de Pathologie Végétale et Entomologie agricole (XII, n. 2, 1925).

– ARNAUDI C. (vedi pag. **86**).

96 – BENIGNI E., *Note sull' « Ustilago maydis » (D. C.) Corda nella valle Padana* (Riv. di Pat. Veg., XVII, n. 3-4, 1927).

97 – NOBÉCOURT P. (vedi pag. **88**).

104 – MÜLLER A., *Die innere Therapie der Pflanzen* (Berlin, 1926).

– ZOJA A. (vedi pag. **90**).

105 – BLACKMANN V. H. (vedi pag. **83**).

– ARNAUDI C. (vedi pag. **86**).

108 – D'HERELLE F., *Le bacteriophage* (Masson, Paris, 1921).

– HANKIN, *L'action bactéricide des eaux de la Jumna et du Gange, sur le vibrion du choléra* (Ann. Inst. Pasteur, vol. X, n. 9).

– ALESSANDRINI A., *Natura del batteriofago* (Ann. d'Ig., vol. 35, 1925, numero 8).

109 – SIBILIA C., *Il Batteriofago nella patologia vegetale* (Boll. della R. Stazione di Patologia Vegetale di Roma, anno VI, N. S., n. 3, 1926).

110 – GERRETSEN F. C., GRYNS A., SACK J. e SÖHNGEN N. L., *Das Vorkommen eines Bakteriophagen in den Wurzelknöllchen der Leguminosen* (Centr. f. Bakt., II Abt., vol. 60, 1923, pag. 311).

– COONS G. H. e KOTILA J. E., *The trasmissible lytic principle (Bacteriophage) in relation to plant pathogenes* (Phytopath., vol. XV, n. 7, pag. 357, 1925).

111 – LUMIÈRE A. e COUTURIER H., *L'anaphylaxie chez les végétaux* (C. R. Acad. des sciences, 1921).

112 – CARBONE D., *Le reazioni immunitarie delle piante* (Bioch. e Ter. Sperimentale, X, fasc. 7, 1923).

– NOBÉCOURT P., *L'anaphylaxie chez les végétaux* (Bull. Soc. Bot. de France, 1925).

– NOVOA SANTOS e GONZALES CRIADO, *Sur la prétendue anaphylaxie chez les végétaux* (C. R. Soc. Biol., 1924).

– LONGO B. e CESARIS-DEMEL A., *Sulla possibilità della sensibilizzazione anafilattica nei vegetali* (Atti R. Acc. Naz. dei Lincei, 1925, N. 12).

CAPITOLO IV.

I FATTORI UMORALI DELL'IMMUNITÀ

DOMENICO CARBONE

§ 1. – LA CIRCOLAZIONE DEI SUCCHI NELLE PIANTE SUPERIORI.

Le piante verdi hanno, com'è noto, la proprietà di sintetizzare le sostanze organiche, da cui esse pure sono costituite, per combinazione del carbonio, provveduto dall'anidride carbonica attraverso la sintesi clorofilliana, con gli altri elementi assorbiti in forma minerale, assieme all'acqua, dal terreno. Il movimento dei succhi ha perciò, nelle piante verdi, aspetti notevolmente diversi da quello degli animali, trattandosi qui, da un lato dell'assorbimento della soluzione minerale dal suolo, dall'altro dello spostamento, tra l'una e l'altra parte della pianta, della soluzione delle sostanze organiche elaborate nel modo anzidetto, e dirette dagli organi che le formano a quelli che le utilizzano o muoventisi nell'uno e nell'altro senso in rapporto agli organi che servono al loro deposito.

Noi dobbiamo, perciò, considerare nella pianta due specie di linfa: quella *greggia*, che trasporta i sali, e la cui acqua viene poi in parte eliminata sopratutto con la traspirazione; e l'altra *elaborata*, che conduce le dette sostanze organiche.

Di una vera circolazione chiusa tra gli organi addetti al trasporto dell'una e quelli adibiti all'altra linfa non può parlarsi; è certo però che almeno l'acqua della linfa elaborata — cosí come quella del succo cellulare, dei latici, dei secreti ghiandolari, e in altri termini di tutta la pianta — proviene, in ultima analisi, da quella della linfa greggia.

Quest'ultima si origina, normalmente, dalle radici. Le cellule dei peli radicali assorbono la soluzione minerale che impregna il terreno, ma, nell'esserne attraversate, esercitano su di essa un'azione elettiva, che viene cosí a regolare fin dall'inizio la composizione della linfa stessa. Questa corre poi per i vasi dello xilema o legno; giunta ch'essa sia, attraverso tale sistema continuo, alle estreme nervature delle foglie, di qui ne avviene poi il parziale riversamento nell'atmosfera a mezzo della traspirazione.

Ma lungo tutto il cammino e fino al suo termine, la linfa si diffonde anche ai tessuti circostanti, attraverso le cellule vive che attorniano i vasi legnosi e di qui via via a tutto l'organismo: la distribuzione del liquido non avviene cioè in un sistema chiuso di vasi, ma attraverso a cellule viventi, e perciò capaci d'assorbimento elettivo.

Anche la corrente della linfa del legno può talora trasportare sostanze organiche, ad esempio albumina, asparagina, acidi organici (Jost) e contiene normalmente zuccheri.

Si ritiene anzi da alcuni (Dixton, Atkins, citati da Montemartini) che lo strato di cellule amilifere che circonda i singoli vasi del legno possa essere considerato come una guaina ghiandolare secernente idrati di carbonio solubili, destinati ad essere portati rapidamente verso l'alto con la corrente traspiratoria, e che i raggi midollari abbiano la funzione di condurre gli idrati medesimi dalla corteccia verso tali guaine ghiandolari.

La linfa elaborata percorre, invece, i vasi del floema o libro: ed il meccanismo di tale movimento è ancora ignoto (Jost).

Tutto quanto ho detto è un po' schematico, e non tiene conto di molti particolari e di qualche eccezione, perchè a me preme soltanto di darne un'idea sommaria: devo però avvertire che il dare alla linfa greggia — come spesso si fa — il nome di *ascendente* — e di *discendente* all'elaborata — se è di regola giusto, è però in determinate circostanze contrario alla realtà dei fatti.

È infatti noto che, in determinate circostanze, può crearsi una corrente di linfa che percorra i vasi del legno dalle foglie verso la radice. Lo Jost, nel noto manuale di Botanica dello Strasburger, dice infatti: « Se noi mozziamo una pianta in via di attiva traspirazione vicino al colletto della radice, questa da principio non emette acqua quasi affatto, al contrario anzi il moncone succhia avidamente l'acqua che noi gli offriamo (fenomeno della cosidetta « pressione negativa »).

Ed il Müller ha dimostrato che, immergendo in una soluzione di solfato di rame l'estremità di un ramo laterale, tagliato alla cima od anche integro e provvisto di foglie, il solfato invade la pianta diffondendosi d'alto in basso nel ramo assorbente fino alle più basse biforcazioni e di qui risalendo ai rami collaterali. Su tale fatto, anzi, il Müller ha basato un suo metodo di somministrazione interna di sostanze insetticide alle piante.

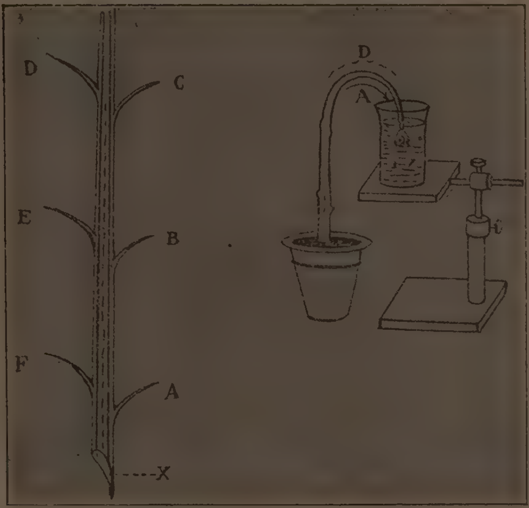


Fig. 26 – Diagramma per la determinazione del tasso di deflusso della linfa nella direzione ascendente e discendente. Nel diagramma di sinistra si vede una fessura longitudinale praticata nel fusto e indicata con una linea punteggiata; in tale fessura è introdotto un pezzo di mica. L'acqua, applicata sulla superficie tagliata obliquamente *X*, sale da *A* a *B* ed a *C* e discende in senso contrario in *D*, *E* ed *F*. Il diagramma di destra rappresenta il deflusso inverso della linfa dopo irrigazione delle foglie: *A* è la direzione normale della salita, e *D* quella inversa del deflusso (da Bose).

Il Bose, infine, ha determinato la velocità della linfa dall'alto al basso e dal basso all'alto e trasversalmente, valendosi del semplice dispositivo indicato dalla fig. 26, ed ha trovato che le tre dette velocità stanno fra loro come 27: 8: 1. E nella stessa figura si vede rappresentata un'esperienza che dimostra come, in condizioni di siccità, la pianta possa assumere l'acqua, in direzione opposta alla normale, attraverso una foglia.

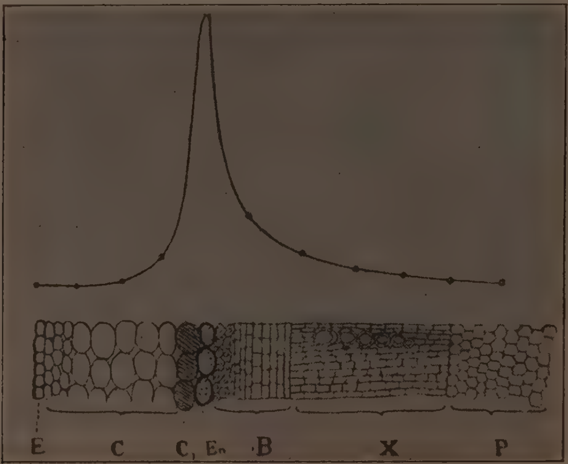
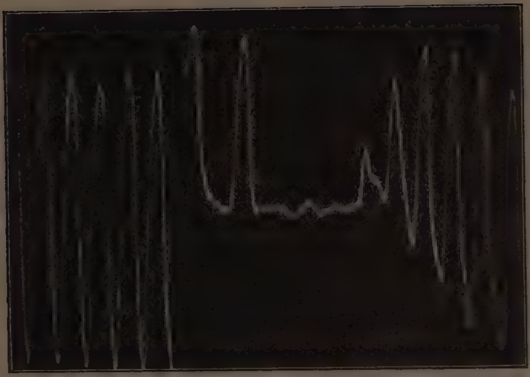


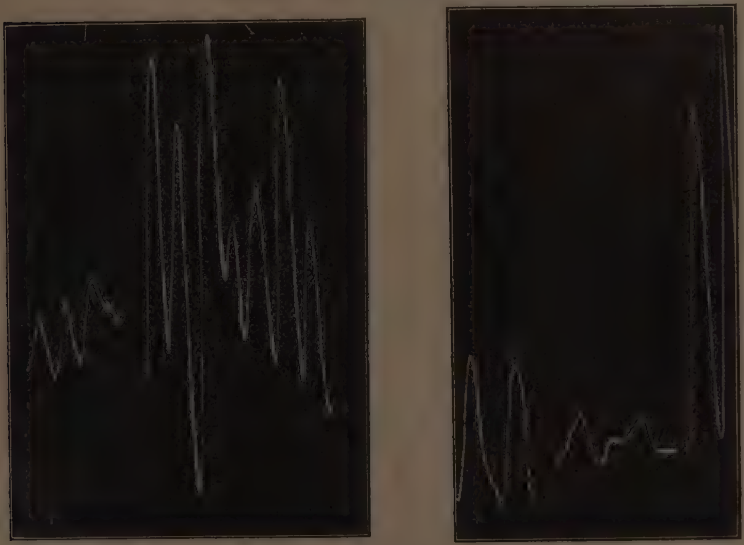
Fig. 27 – Sezione di picciuolo di *Brassica* e curva della intensità della pulsazione cellulare nei diversi strati di tessuti. *E*, Epidermide; *C*, corteccia; *C*, strato corticale interno pulsante; *En*, endoderma; *B*, floema; *X*, xilema; *P*, midollo (da Bose).

Sul meccanismo del movimento della linfa greggia si sono proposte diverse teorie, che ponevano in primo piano ora la capillarità, ora la pressione radicale o « *vis a tergo* », ora la concentrazione osmotica che, aumentando nelle foglie per la traspirazione, richiamerebbe acqua dai vasi e di qui giù giù fino ai peli radicali; ma, se alcuni AA. ancora mostrano di accontentarsi di tale spiegazione (A. Müller), i più invocano invece l'intervento, con meccanismo ignoto, delle cellule vive del legno (Montemartini), o concludono più gene-



A

Fig. 28 – Azione della temperatura sulle pulsazioni delle piante. *A*. Azione di un rapido raffreddamento con acqua ghiacciata sulle pulsazioni del *Desmodium gyrans* (le linee ascendenti rappresentano l'abbassamento della foliola; le discendenti, la sua erezione). A sinistra, pulsazioni normali, al centro, pulsazioni depresse dal freddo; a destra, loro ripresa per graduale ritorno alla temperatura ambiente. – *B*. Accrescimento dell'ampiezza di pulsazione dello strato corticale interno per elevazione della temperatura (a sinistra pulsazioni normali). *C*. Accrescimento della lunghezza dell'onda peristalsica dello strato corticale interno per elevazione della temperatura (rilevata per via elettrica). Al punto del *massimo*, situato a 25 mm. dal primo contatto, con l'alzarsi della temperatura la pulsazione è divenuta irregolare e meno ampia. Trasportando il secondo contatto a 35 mm. dal primo si è raggiunto il nuovo *massimo*: contemporaneamente si vede l'aumento di ampiezza delle singole pulsazioni (da Bose).



B

C

ricamente che « un mistero ancor fitto regna sull'argomento » (VACCARI).

Questo « mistero » appare rivelato dalle ricerche del biologo indiano I. C. BOSE: il quale, avendo dimostrato che lungo tutta la pianta si estende, assai presso allo xilema, uno strato di cellule pulsanti, ritiene che dalla loro pulsazione dipenda il movimento della linfa, per la quale i vasi dello xilema non sarebbero che dei serbatoi (fig. 27). Da questi le dette cellule vengono alternatamente aspirando e comprimendo il liquido, come se fossero una serie di minuscole pompe aspiranti e prementi, e poichè le pulsazioni delle cellule non sono sincrone, ma variano di fase dall'una all'altra sezione della pianta, così esse vengono a creare una sorta di peristalsi, che muove il liquido in una direzione determinata (la quale, come già si è detto, normalmente va dalle radici alle foglie e quindi dal basso in alto).

Tanto la velocità ed ampiezza di pulsazione delle singole cellule quanto la lunghezza di quest'onda peristalsica, variano sotto l'influenza dei fattori ambientali, ed in senso eguale a quanto fanno le altre attività pulsative delle piante (movimenti del *Desmodium gyrans*, ecc.). Vedi fig. 28.

§ 2. – L'ASSORBIMENTO E LA SORTE DI SOSTANZE SOMMINISTRATE ALLE PIANTE ATTRAVERSO LE LINFE.

a) *Linfa del legno.* — Abbiamo visto fin qui come circolino nelle piante le sostanze che queste assorbono elettivamente dal terreno, e quelle che migrano da un punto all'altro della pianta: ciò che rappresenta, in altre parole, la circolazione normale di quest'ultima. Ma ora dobbiamo proporci un'altra questione: si possono introdurre, nel circolo, sostanze estranee? E per quali vie? Vengono esse del pari diffuse a tutto l'organismo? Ed avviene ció anche quando si tratta di pseudosoluzioni colloidali? Una risposta affermativa a tali domande appare infatti a molti condizione *sine qua non* per non escludere addirittura *a priori* la possibilità che anticorpi, congeniti od acquisiti, abbiano a circolare nei succhi: e ciò perchè, *negli animali*, gli anticorpi sono legati a sostanze colloidali. La cosa in realtà ha minor valore di quel che sembra, dato che nulla noi sappiamo sull'effettiva natura degli anticorpi anche zooimmunitarî; ma comunque, una serie abbastanza vasta di ricerche sta a dimostrare che molte sostanze, introdotte con tecnica opportuna nei vasi del legno, ed anche normalmente assorbite dalle radici integre, possono giungere di qui fino alle estreme nervature delle foglie. Un'esposizione assai larga dell'argomento si trova nella già citata monografia del MÜLLER, alla quale rimando chi voglia meglio approfondire la questione. Da essa apprendiamo, fra l'altro. che RUMBOLD ha visto come soluzioni di parecchie sostanze — ed ispecie organiche — iniettate con apposito dispositivo nel legno di castagni posti in piena terra, fossero assorbite ininterrottamente anche per 41 giorni, sí che un solo albero giungeva ad assumerne fino a trentadue litri e mezzo (soluzione molto diluita di paranitrofenolo). Anche delle pseudo-soluzioni di metalli colloidali, somministrate in aprile a giovani castagni ancor privi di foglie, furono assorbite, benchè lentamente. I colori di anilina poi, vengono in genere assorbiti più o meno rapidamente e portati sia all'insù, sia all'ingiù, a seconda delle circostanze; essi vengono per solito fissati dalle pareti lignificate (che se ne tingono) e diffondono talora anche ai tessuti circostanti (floema, meristema radicale). Molti di essi — e fra questi l'eosina — sono però fortemente tossici per le piante; più innocuo è il bleu di metilene.

Anche noi, prima che fossero pubblicate le citate memorie del MÜLLER e del BOSE, abbiamo avuto occasione di fare — a titolo di prove preliminari, o di controllo — diverse esperienze dirette a verificare, sul gelso e sul lauroceraso, l'assorbimento, per il legno, di sostanze coloranti (eosina, rosso neutro), di pseudosoluzione colloidale di idrato di ferro, di siero normale di cavallo, di sieri immuni contenenti agglutinine, precipitine, emolisine. E ciò, tanto su rami tagliati ed immersi nella soluzione della sostanza in esperimento, quanto su piante integre nel cui legno questa s'introduceva con apposite pipette (v. tecnica pag. 204); e sia verificando — direttamente o con saggi su estratti o sul succo di spremitura — l'arrivo della sostanza alle foglie, sia ricercando quest'ultima all'estremo superiore del ramo, opportunamente interrotto da un tubo di vetro dal quale si faceva aspirazione (v. tecnica, pag. 195 e segg.).

I due coloranti giunsero alla nervatura delle foglie. Pér l'eosina, della quale si confermò l'azione tossica, si notò che l'arrossamento s'iniziava sul margine della foglia, poi veniva guadagnando le maggiori nervature secondarie ed infine la mediana, a cominciare dall'apice. Sezioni, fatte nei primi giorni, delle zone arrossate marginali, dimostrarono che la colorazione era ristretta alle più fini nervature, nelle quali il legno era intensamente rosso ed il libro appariva roseo, mentre le cellule del parenchima fogliare non avevano tracce di arrossamento.

Tutto ciò era anche evidente se si esaminava la foglia integra a piccolo ingrandimento con l'interposizione di una goccia d'olio di legno di cedro coperta da un coprioggetto, ed usando per l'illuminazione la luce diretta del sole.

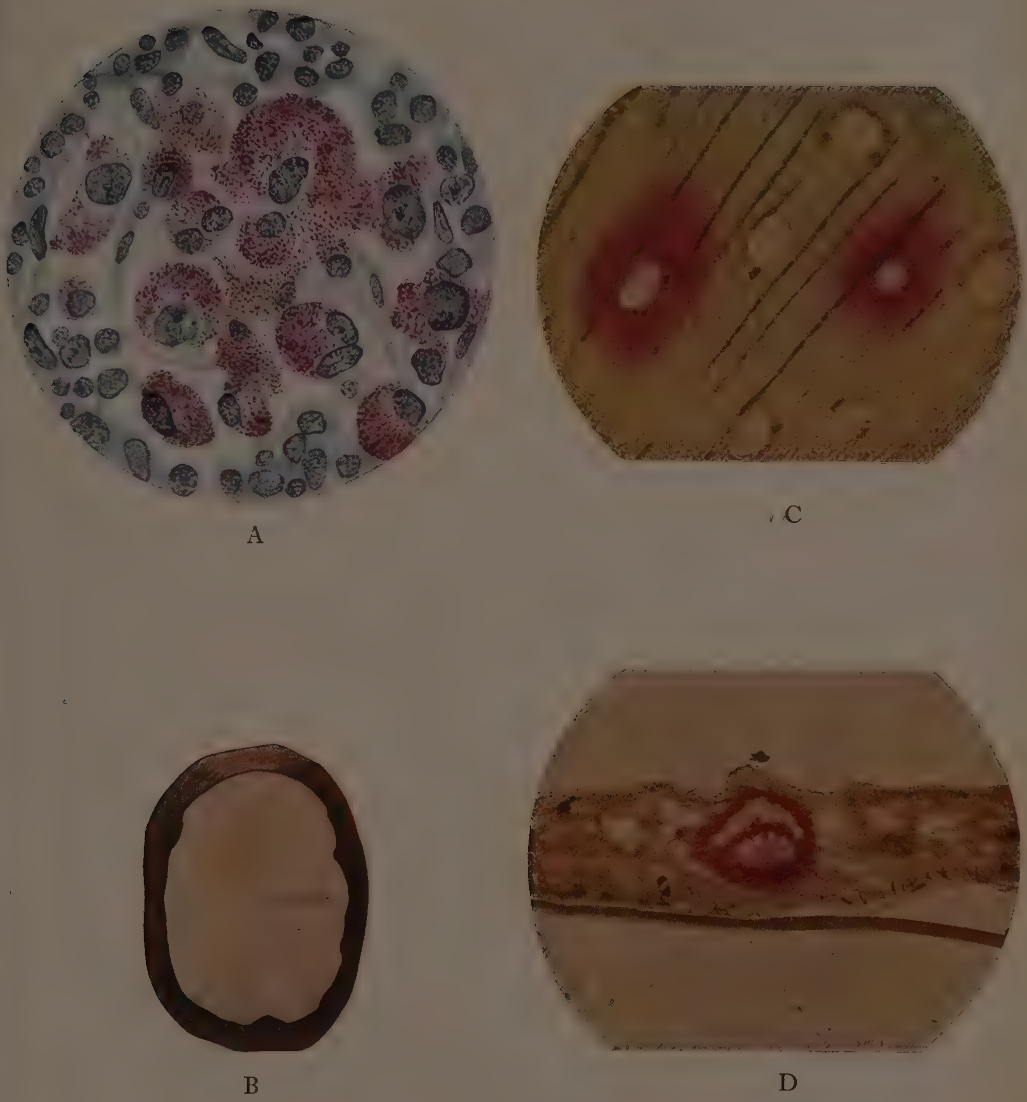
Ma anche in seguito — quando, cioè, la colorazione aveva già raggiunto le nervature maggiori e l'apice della mediana — in sezioni del picciuolo fogliare il legno appariva del tutto esente da colorazione: fatto, questo, già noto ai fiorai (GHERSI) ma non per ciò meno oscuro nel suo meccanismo. La soluzione di rosso neutro, più lenta a salire fino alle foglie, tinse invece anche il legno del picciuolo. Nel ramo, anche con eosina, il legno era arrossato: ma la colorazione si propagava in senso longitudinale e non trasversalmente.

L'idrato di ferro colloidale, fu impiegato nella pseudo-soluzione ordinaria dell'I.S.M., sia tal quale, sia diluita al 50% con acqua. Vi furono posti a pescare dei rametti di gelso dei quali, dopo 24 ore, si fecero sezioni. Queste, poste in soluzione di ferrocianuro potassico acidificata con acido cloridrico, si colorarono in azzurro, mentre sezioni di rami di controllo non vi si tinsero.

Per i rami di gelso muniti del citato apparecchio d'aspirazione, si sperimentarono anche sospensioni più grossolane.

Una sospensione di *B. prodigiosum*, dopo 24 ore aveva arrossata l'acqua del tubo di vetro; ma fatte delle piastre in agar sia da questo che dal vaso inferiore, si ebbe crescita del *B. prodigiosum* soltanto per quest'ultimo.

È dubbio, però, se ciò si debba al mancato passaggio dei batteri, o alla morte di questi — con ignoto meccanismo — durante la traversata dei vasi legnosi: perchè in un'esperienza compiuta con uguale tecnica, corpicciuoli più grossi — e cioè delle emazie di montone, sospese in soluzione isotonica (5%) di glucosio — dopo ventiquattro



A

C

B

D

A – Fagocitosi da fagociti fissi: *B. Tuberculosis* in polmone di coniglio. Vedi pag. 16 (Da Pettinari V. *Boll. Ist. Sier. Milanese*, vol. VIII, 1929, pag. 481).

B – Reazione pigmentaria in fetta di patata, cotta superficialmente, infettata con due strisci a croce. Vedi pag. 59.

C – Sezione di ramo di gelso che ha assorbito eosina per quattro giorni. (Microfotografia tricromica di *Lando Colombo*, da preparato nostro).

D – Sezione di foglia di gelso che ha assorbito eosina. (Microfotografia come sopra).

ore erano giunti, in numerosi grumi, nel tubo di vetro. La salita dei microrganismi fino alle nervature delle foglie appare invece improbabile, perchè l'estratto acquoso delle foglie di rami di lauroceraso immersi in sospensioni di microrganismi morti del tifo e del colera diede reazione interamente negativa di fronte ai rispettivi sieri precipitanti.

Per darci conto del meccanismo di salita della linfa, noi abbiamo anche cimentato con l'eosina, dei rami di gelso trattati per 24 ore con etere (esposizione ai vapori o immersione) od uccisi col calore (20 minuti a 120°C.); ed abbiamo constatato la salita spontanea del colore fino alla sommità del ramo, sia negli uni che negli altri, verosimilmente per semplice capillarità, che evidentemente nei rami non troppo lunghi impiegati da noi era sufficiente a tale sollevamento.

L'avvenuto passaggio del siero normale di cavallo si indagò con la reazione zonale a mezzo del siero precipitante anticavallo, ed anche, pei rami con aspirazione, con la reazione del biureto: e cosí lo si potè constatare sia nelle foglie di rami di lauroceraso, sia in rami, recisi o su pianta integra, di gelso. Nei rami recisi con aspirazione, la reazione del biureto confermò anche il passaggio dei sieri di cavia ed umano.

Di più difficile interpretazione sono le esperienze sugli anticorpi animali (sieri immuni) a causa dell'eventuale presenza di pseudoanticorpi (v. pag. 131) e, per le reazioni a base d'emolisi, anche a causa delle eventuali sostanze antiemolitiche (vedi pag. 133).

Preferisco, per ciò, di raccogliere in tabelle i risultati delle esperienze in proposito, dai quali può dedursi che — sia pure non senza irregolarità — tutti gli anticorpi studiati (agglutinine, ambocettore emolitico, precipitine), possono bensí attraversare, per aspirazione, il legno del ramo, ma è tutt'altro che sicuro che giungano spontaneamente fino alle foglie. Un arrivo nel tumore delle agglutinine del siero immune *antitumefaciens* deve però presumibilmente ammettersi nelle esperienze dell'ARNAUDI sulla sieroterapia dei tumori nei rami recisi di *Pelargonium zonale* (vedi pag. 105).

TABELLA 1. — SIERI

N. progressivo	TECNICA	Siero agglut. somministrato	RISULTATI B. thyphi	RISULTATI Paratifo A.	RISULTATI Paratifo B.
1	III *a* (lauroceraso)	Antitifo	+ + +		
2	» »	»	+ + +	+ +	+ +
3	» »	»	+ +	±	+ +
4	III *b* »	»	+ + +	+ + +	
5	II *C* più eosina (*) (gelso)............	»	—		
6	Idem	»	+ + +		
7	I *C* (gelso)	»	+ + +		
8	I *B′* (gelso)	»	+ + +	—	
9	Idem, più eosina (*)	»	+ + +	—	
10	I *A′* (gelso)	»	—		
11	I *B″* (lauroc. su gelso) più eosina (*) .	»	+ + +	—	—
12	III *a* (lauroceraso)	Anticolera	±	±	±
13	III *b* »	»	+ + +		
14	II *C* più eosina (*) (gelso)............	»	—		
15	Idem	»	—		
16	I *B′* (gelso)	»	—	—	
17	Idem più eosina (*)	»	—	±	
18	I *A′* (lauroceraso)	»	—		
19	I *B″* (l. su g.) più eosina (*)	»	—	—	—
20	III *a* (lauroceraso)	Antimelitense	±	±	±
21	III *b* »	»	—		
22	Idem	»	+ + +		
23	I *B′* più eosina (*)	Antiparatifo A.	—	+ + +	—
24	I *B″* (lauroc. su gelso) più eosina (*) ..	»	—	+ + +	—
25	Idem	Antiparatifo B.	—	—	—
26	I *B′* (gelso)	Anti-coli	—	—	
27	Idem più eosina (*)	»			
28	I *A′* (lauroceraso)	»	—		
29	I *B″* (l. su g.) più eosina (*)	»	—	—	—
30	Idem	»			

(*) L'eosina arrivò sempre fino al tubo di vetro. Apposite esperienze dimostrarono che agglutinanti, non influiva per nulla sul titolo di questi ultimi.

AGGLUTINANTI.

Risultati					Osservazioni
Dissenteria Shiga	Dissenteria Flexner	B. Coli	V. Cholerae	M. Melitensis	
	+ + +	+	—	—	
—	+ +	±	—	±	
—	+ + +	+ + +	—		L'estratto acquoso è diluito alla metà.
			—		Ripetute 3 volte con lo stesso esito.
			—		
		—	—		
		—	—		
		—	—		Ripetuta 3 volte, e cioè prelevando il liquido nel tubo di vetro dopo 24, 48, 72 ore dall'inizio dell'esperienza, e sempre con lo stesso risultato. Il liquido del vaso in cui pesca il ramo dà forte agglutinazione del *B. typhi* fino alla fine dell'esperienza.
		—	—		
±	+ + +	±	±	±	
			—	—	Ripetuto 2 volte con gli stessi risultati.
			—		Ripetuto 3 volte con gli stessi risultati.
			+ + +		
		—	+ + +		
		—	±		
		—	—		Ripetuta 3 volte come pel n. 10; il liquido del vaso in cui pesca il ramo dà risultato *negativo con V. cholerae.*
		—	+ + +		
±	±	±	±	±	
			—	—	
			—	—	
		—	—		
		—	—		
		—	—		
		+ + +	+ + +		
		+ + +			
		—	—		Ripetuto 3 volte come pel n. 10; il liquido in cui pesca il ramo agglutina fortemente il *B. coli* fino alla fine dell'esperienza.
		—	—		
		+ + +			

aggiunta di eosina, nella proporzione qui impiegata (circa 0,5 per mille), a soluzioni dei sieri

TABELLA 2.

TITOLAZIONE DEL POTERE AGGLUTINANTE (SIERO ANTITIFICO).

N°	Tecnica	Risultati alle diverse diluzioni
31	III *a* (lauroceraso)	4/5 + + +; 1/2 + + +; 1/10 ±; 1/25 ±; da 1/50 a 1/10.000—.
32	III *b* (lauroceraso)	1/2 + + +; 1/5 + + +; 1/10 +; 1/25 ±; 1/50 ±; da 1/100 a 1/10.000—.

b) *Linfa del libro.* — Mentre molti sono stati fin dai primi tempi — come abbiamo visto — gli studi sulla circolazione di sostanze estranee nella linfa del legno, non mi consta, per contro, che altri abbia tentato prima di noi di fare altrettanto per la linfa del libro.

Ritengo perciò non inutile di riportare per esteso questa parte delle nostre esperienze, benchè queste siano state assai poche ed abbiano dato esito costantemente negativo, forse anche per deficenze, finora non superate, della tecnica impiegata.

Anche qui abbiamo cimentato e le sostanze coloranti ed i sieri immuni.

Delle prime si sperimentò soltanto l'eosina, ma con una tecnica che si dimostrò inadatta allo scopo.

Questa consisteva nell'impiego dell'apparecchio rappresentato dalla fig. 29. Nel recipiente inferiore si metteva appunto una soluzione di eosina: nel superiore, acqua distillata. Il ramo (di lauroceraso) era scortecciato da un punto un poco più alto del fondo del recipiente superiore in giù. Il livello dell'acqua nel vaso superiore a volte era al di sotto, a volte al di sopra dell'inizio della parte scortecciata. Noi pensammo che, se nel libro si fosse stabilita una corrente discendente di linfa, qualora in essa fosse giunta l'eosina salita pel legno, questa avrebbe dovuto arrossare l'acqua distillata del vaso superiore. Ciò non avvenne, pur essendo l'eosina salita fino alle nervature delle foglie. Ma altre esperienze, in cui fu posta acqua distillata in entrambi i recipienti e poi si determinò l'indice refrattometrico del liquido di ognuno dei vasi, diedero cifre uguali in entrambi od anche più alte nell'inferiore, dimostrando cosí che nessuna sostanza si era riversata, dalla superficie di taglio del libro, nell'acqua del vaso superiore. Perciò questa tecnica — ideata al principio delle nostre ricerche, nell'inverno 1923 — fu poi abbandonata.

Dei sieri immuni, quello agglutinante antitifo venne sperimentato anzitutto col dispositivo ora descritto, ed esso pure diede, in tal modo, risultato interamente negativo. Poi lo si inoculò con pipetta nel parenchima fogliare d'una pianta integra di gelso (v. Tecnica, pag. 202, e fig. 41): ma anche così si ebbe risultato interamente negativo.

A ciò si riducono le ricerche relative al tema di questo capitolo, da noi compiute sulla linfa del libro: e la ragione per la quale non le abbiamo proseguite sta essenzialmente nel fatto, che appunto nella linfa elaborata — come nei succhi di pressione ed estratti acquosi *in toto* — si trovano facilmente pseudoanticorpi (vedi sotto), che rendono oscura l'interpretazione dei fatti osservati.

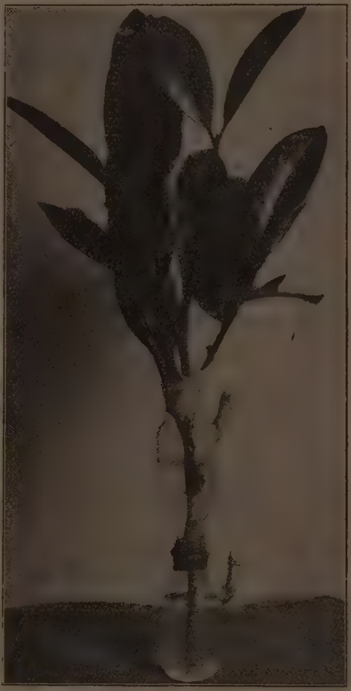


Fig. 29 – Apparecchio ideato per la raccolta della linfa del libro, ma inadatto allo scopo (v. nel testo).

§ 3. – I PSEUDOANTICORPI.

Abbiamo dato il nome di *pseudoanticorpi* ad un gruppo di sostanze che si possono trovare normalmente nei succhi vegetali, e che provocano fenomeni almeno in apparenza analoghi a quelli che caratterizzano gli anticorpi zooimmunitari.

TABELLA 3. — SIE

N°	TECNICA	SIERO PRECIPITANTE	RISULTATI
33	III *a* (lauroceraso)	Anti-cavallo	Siero cavallo — Siero cavia —
34	I *D* (gelso)	»	Siero cavallo + Siero cavia + Siero umano —
35	Idem (gelso)	»	Siero cavallo + + Siero cavia +

TABELLA 4. — SIE

N°	TECNICA	SIERO EMOLITICO	RISULTATI
36	III *b* (lauroceraso)	Anti-montone	Con emazie montone e complemento —
37	Idem	»	
38	I *B''* (laurocer. su gelso) .	»	Con emazie montone e complemento +
39	I *D* (gelso)	»	Con emazie montone e compl. + + + Con emazie bue e compl. + +

RECIPITANTI.

Osservazioni
Liquido del vaso in cui pesca il ramo .... Siero cavallo + + + Siero cavia + + Siero umano +
Liquido del vaso in cui pesca il ramo .... Siero cavallo + + + Siero cavia + + Siero umano +

EMOLITICI INATTIVATI.

Controlli	*Osservazioni*
Liquido con sistema emolitico completo, ripetuto due volte, risp. ± e —	Il liquido non è stato filtrato.
Liquido con sistema emolitico completo + + +	Il liquido è stato filtrato.
Liquido con emazie —; emazie sole —; emazie con complemento +	
Liquido del vaso in cui pesca il ramo: con emazie *montone* e compl. + + +; con emazie *bue* e compl. + +	Fatta, contemporaneamente, su due rami, con risultati eguali in tutti e due.

Generalmente queste sostanze, nella stessa specie vegetale ed anche nelle varie parti di singoli individui, sono distribuite irregolarmente, sicchè, nel corso di una serie di esperienze, si può trovarle una volta presenti ed anche abbondanti, ed un'altra scarse od assenti: e variazioni analoghe possono talora osservarsi anche, ad esempio, fra l'estratto di una foglia e quello di un'altra foglia prelevata dalla stessa pianta e nello stesso momento. Inoltre i pseudoanticorpi spesso presentano, più o meno spiccato, il fenomeno della pseudospecificità: in seguito al quale, ad esempio, la linfa di una stessa pianta, una volta agglutina il batterio tifico e non il melitense, ed un'altra fa l'opposto.

Tanto l'irregolarità, quanto la pseudospecificità, fanno sí che i pseudoanticorpi costituiscano una grave e pericolosa causa d'errore in tutte le ricerche sul passaggio di zooanticorpi nelle linfe, e sull'eventuale formazione di anticorpi veri per inoculazione d'antigeni nelle piante: ne abbiamo già visto qualche esempio nel paragrafo precedente (v. tab. 1, n. 13 e 22; e tab. 4, n. 36).

E questo rende anche difficile lo stabilire, a chi spetti la priorità nel constatare l'esistenza dei pseudoanticorpi: perchè non è improbabile che tali fossero quelli, che da alcuni AA. sono stati descritti come veri anticorpi.

Già dalla definizione che ne abbiamo data, è evidente come il gruppo dei pseudoanticorpi sia in realtà qualcosa di artificiale. Abbiamo visto, infatti, (v. pag. 13) come l'esistenza e la qualità degli anticorpi si possa giudicare soltanto da alcuni loro tipici effetti sugli antigeni rispettivi. Ora, effetti eguali (di fatto, o in apparenza) possono essere prodotti da cause diverse e con meccanismi differenti: per citare un esempio, una soluzione proteica può essere intorbidata sia dalla rispettiva precipitina, sia da un qualunque agente coagulante. E poichè le specie degli anticorpi zooimmunitari (o meglio, delle azioni riferite ad essi) sono parecchie, cosí saranno verosimilmente numerose, e probabilmente di natura diversa, le sostanze vegetali che noi verremo raccogliendo sotto la denominazione dei diversi gruppi di pseudoanticorpi: nei quali verranno cosí a trovarsi, accanto a sostanze già conosciute e studiate da parecchio tempo, altre sulla cui natura siamo ancora perfettamente all'oscuro. Non vi è infatti ragione — dato questo criterio, in certo modo soggettivo, nel definire i pseudoanticorpi — perchè si debbano escludere, ad esempio, dalle pseudoemolisine e pseudoemoagglutinine le fitotossine che agglutinano o sciolgono le emazie come l'abrina e la ricina; o perchè si escludano dalle pseudoantiemolisine quei « fattori antiemolitici » del vino e del thè, che verosimilmente appartengono ai tannini, ed agiscono innalzando la resistenza delle emazie contro tutte le specie d'emolisi.

Dato questo inquadramento della materia, non sarebbe facile fare la storia della constatazione dei pseudoanticorpi. L'origine non immunitaria delle fitotossine è infatti nota fin dalla loro scoperta: mentre neppure il Kritschewsky — che è fra i primi ad avere studiato minutamente una pseudoagglutinina e pseudoprecipitina vegetale — si pronuncia molto nettamente per una differenza di natura fra questi pseudoanticorpi e gli anticorpi congeniti *sensu strictiori*. Nè si può escludere, difatti, che determinati pseudoanticorpi possano in realtà essere dei veri anticorpi congeniti, sebbene da questi li differenzî per solito nettamente il carattere della pseudospecificità: così come non può escludersi comunque, che agli pseudoanticorpi possono spettare compiti di difesa della pianta (v. pag. 54). Rinuncio, perciò, ad un'esposizione cronologica dei lavori sull'argomento, che potrebbe dar luogo a un'intricata serie di rivendicazioni di priorità: e mi limito a rammentare come le parole « pseudoanticorpi » e « pseudospecificità » nel senso or ora definito, dopo un accenno alla seconda nel nostro lavoro « Ancora delle reazioni immunitarie delle piante » (1925), siano state per la prima volta usate da noi nella nota intitolata « Risultati degli studi sulle reazioni immunitarie delle piante », anch'essa del 1925.

Ciò posto, veniamo ora a considerare partitamente le singole categorie di pseudoanticorpi.

a) *Pseudoanticorpi emoagglutinanti, emolitici ed antiemolitici.* — I succhi di spremitura e gli estratti acquosi e clorurosodici di parecchie piante esercitano sulle emazie or l'una or l'altra delle azioni in questione: e talora ne esercitano ad un tempo due od anche — a seconda delle circostanze — tutte e tre.

Così, ad esempio, il succo di *Armillaria mellea* è soltanto emolizzante; quello di *Boletus sp.* è ad un tempo emoagglutinante ed emolitico; una piccola dose di ricina agglutina le emazie dei pesci, che una dose più forte emolizza; la ricina stessa, in presenza di un'emulsione di lecitina precipitata da essa e poi filtrata, emolizza le emazie senza agglutinarle; il succo di *Cotyledon Scheideckeri* si limita ad agglutinare se non si agita il miscuglio ed emolizza invece parzialmente se questo è agitato, ma d'altro lato impedisce l'emolisi da ipotonia e quella da emolisina specifica zooimmunitaria. Ed infine il « pseudoambocettore emolitico » della linfa del legno di gelso (di cui si dirà più giù) in presenza di siero fresco di cavia emolizza le emazie di montone, mentre in mancanza di tale siero non solo le agglutina, ma ne ostacola l'emolisi ad opera sia della saponina, sia dell'ipotonia.

Il vario intrecciarsi dei tre tipi d'azione sulle emazie, di cui ho dato or ora qualche esempio, mi ha indotto dunque a trattarli tutti insieme. Ciò non vuol dire però che, in ogni succo, tutt'e tre le azioni debbano sempre ascriversi ad una sola sostanza; chè anzi, il fatto di poterle talvolta trovare isolate o variamente aggruppate, e talora anche un diverso comportamento rispetto alla temperatura o ad altri fattori, induce a credere che non sempre — e forse, più raramente che non si creda — le varie azioni di un unico succo siano dovute ad una stessa sostanza. Nè si deve credere, d'altro lato, che ogni singola azione sia dovuta, in tutti i succhi, alla medesima causa; chè anzi è probabile che, ad esempio, i « fattori antiemolitici ed agglutinanti dei vini » studiati dal RUSCONI e l'analoga sostanza rinvenuta dal FERRON nelle foglie di thè, appartengano al gruppo dei tannini, mentre la ricina, sia o non sia per se stessa un'albumina, pel suo carattere di antigeno non potrebbe assegnarsi a tale gruppo.

Ma su quest'ultimo punto come su parecchi altri è assai difficile dare un giudizio; perchè tutto questo gruppo di pseudoanticorpi, pur essendo stato ormai oggetto di parecchi lavori, non può certo dirsi che sia stato studiato sistematicamente. I lavori in argomento, come dicevo, non sono pochi; ma in genere, ciascun autore ha considerato il proprio argomento da un punto di vista a sè, in modo che per ogni singolo succo e sostanza vi sono parecchi dati che mancano per tutti gli altri.

Perciò, invece di seguire l'ordine usuale d'esposizione, che tratta prima delle ricerche altrui e poi delle proprie, farò l'inverso; esporrò, cioè, gli studi nostri su questo campo, e poi li verrò commentando in base alle ricerche altrui.

Fin dal 1904, ma in esperienze pubblicate solo nel 1922, io avevo rilevato l'assenza di emoagglutinazione ed il potere emolitico dell'*Armillaria mellea*. Tale proprietà non è però costante. Nel medesimo tempo avevo osservato una spiccata azione emoagglutinante, ed anche emolitica in *Boletus sp*. Tanto la sostanza agglutinante del *Boletus* come l'emolizzante dell'*Armillaria* sono termostabili (almeno a un'ora a 55° C.), probabilmente precipitabili con alcool in ambiente acido per acido acetico, e capaci di fissarsi solidamente sulle emazie a bassa temperatura, sí da agire poi quando tali emazie, lavate e sospese in soluzione fisiologica, sono poste in termostato. Le proprietà del succo di *Boletus* appaiono ostacolate dalla presenza di siero di cavallo.

Io avevo poi trovato — in una serie di esperienze ancora inedite del 1920 — un elevato potere emoagglutinante ed antiemolitico (rispetto all'emolisi zooimmunitaria) nel succo di patata; fra i due fatti vi era cosí stretta relazione, da indurmi a credere fossero tutt'e due dovuti ad una stessa sostanza. Ma, oltre all'azione agglutinante ed antiemolitica, il succo di patata ne aveva dimostrata, se pure con poca costanza sopra tutto quantitativa, una emolitica; la quale, essendosi in genere manifestata come più forte in patate inoculate con emazie, mi aveva fatto incline a pensare d'aver a fare con un vero anticorpo immunitario. I particolari di questa serie di esperienze saranno pertanto esposti nel capitolo concernente gli anticorpi (v. pag. 183).

La sostanza antiemolitica ed emoagglutinante della patata non impedisce l'emolisi da ipotonia; non può identificarsi con l'acidità del succo, perchè portato questo a reazione nettamente alcalina alla cartina di tornasole per aggiunta di bicarbonato sodico, l'una e l'altra azione sulle emazie non mutano; è eliminata dall'aggiunta di albume d'uovo. L'azione emolizzante, che pur essa non è influenzata dall'alcalizzazione con bicarbonato, è per contro generalmente attivata — o, più probabilmente, posta in evidenza — dall'aggiunta di albume. Al suo comportamento rispetto alla temperatura si è dedicata una sola esperienza; nella quale, dopo riscaldamento per 5 minuti in bagno maria bollente, si aveva abolizione del potere emolitico in assenza di *complemento* (cioè, di siero fresco di cavia) ed esaltamento in presenza di questo.

Prove di controllo dimostrarono che nelle concentrazioni impiegate, il bicarbonato sodico non è emolitico, l'albume non è nè emolizzante, nè antiemolitico, e l'olio di vaselina usato (sempre impiegato per impedire l'ossidazione del succo, vedi Tecnica a pag. 193), non impediva l'emolisi da ipotonia, non era acido al tornasole, e non era nè emolizzante, nè antiemolitico di fronte al consueto *sistema emolitico* (emazie + ambocettore + complemento).

L'azione emoagglutinante ed emolitica del succo di patata è stata in seguito oggetto di più largo studio da parte della Marcusson-Begun, la quale non poteva, evidentemente, conoscere le mie ricerche precedenti ma inedite, ed alla quale era pure sfuggito il lavoro del Vigliano. Questa A. si è servita, nelle sue esperienze, del succo ottenuto raspando le patate con una lima; e non avendo provveduto — come avevo invece fatto io nelle citate ricerche — ad operare sotto olio di vaselina, non è riuscita ad impedirne l'imbrunimento ossidasico. Inoltre ella ha usato per lo più emazie umane, mentre noi ci eravamo serviti in genere di quelle di montone, che dalla tabella di lei appaiono meno sensibili a tale agglutinazione. E per di più ella non ha preso in considerazione il potere antiemolitico, ed anche all'azione emolitica ha dedicata poca attenzione, restringendosi quasi esclusivamente a quella emoagglutinante. In quel poco che vi è di comune fra essi i suoi risultati appaiono però concordanti coi nostri, in quanto l'azione antiagglutinante del siero da lei osservata può probabilmente ritenersi analoga a quella da me constatata per l'albume d'uovo, e se ella ha trovato che l'agglutinina resiste a 60°C. per un'ora ma è distrutta a 100° C. ciò si deve probabilmente alla diversa durata del riscaldamento.

Nel 1922 il Vigliano, in una serie di ricerche orientative sui pseudoanticorpi (vedi tab. 5) concludeva come segue:

a) la proprietà emolitica è assai poco diffusa nelle piante: io l'ho trovata solo nell'*Armillaria mellea*, dove il suo agente non è distrutto dall'ebollizione.

b) assai meno rara è invece la presenza di sostanze ad azione antiemolitica (*Opuntia*, indivia, spinaci, cicoria, limone, *stachis*, patate e di queste ultime più le gialle che le bianche);

c) l'antiemolisi è affatto indipendente dal potere agglutinante pei microrganismi, e dall'azione precipitante sul siero di cavallo;

d) il fattore antiemolitico della patata resiste all'ebollizione ed agisce assai rapidamente a 37°C., mentre a temperatura ambiente è cosí inattivo che il sistema emolitico, in presenza di succo di patate bianche, dopo 24 ore a temperatura ambiente (15-16°C.), risulta completamente emolizzato. Non so, per non averne fatto estesa ricerca, se ciò sia proprietà comune di tutti i fattori antiemolitici vegetali o sia proprio soltanto di quello di patata.

e) la proprietà di agglutinare le emazie di montone è abbastanza diffusa tra le piante da me studiate.

f) essa è indipendente dal potere batterio-agglutinante, dal precipitante, dall'emolitico, e può esistere anche in assenza di potere antiemolitico rilevabile nelle mie condizioni d'esperienza (cavolo, foglia di cavolfiore, cipolla): le piante ad azione antiemolitica, per contro, sono quasi tutte emoagglutinanti, ma anche qui non manca qualche eccezione (*Opuntia, Stachis*);

g) il fattore emoagglutinante della patata resiste all'ebullizione ed è poco attivo a temperatura ambiente;

h) nel cavolfiore mentre il cosidetto fiore non è emoagglutinante, le foglie agglutinano le emazie;

i) nell'indivia, il succo è emoagglutinante ed antiemolitico se filtrato per carta: mentre la filtrazione per amianto alla centrifuga distrugge il solo potere antiemolitico ». (Tab. 5).

In seguito noi abbiamo trovato un'azione emoagglutinante ed antiemolitica, però non costante, nell'estratto di foglie di lauroceraso (v. tab. 4 e 9) ed abbiamo trovata agglutinante per le emazie di montone, ma non antiemolitica, la linfa elaborata dal gelso.

Ho già accennato alla triplice azione della linfa del legno del gelso; ma, poichè questa è stato oggetto di più largo studio, riporto senz'altro — salvo qualche abbreviazione o modificazione di particolari di forma — la parte sperimentale del lavoro originale dell'ARNAUDI.

« In un precedente lavoro — dice, in breve, l'A. — scrivevamo: — La ricerca della formazione di emolisine per inoculazione di emazie (riuscita decisamente nulla nella linfa del libro) diede nella linfa del

TABELLA 5. — ESPERIENZE DEL VIGLIANO

Num. d'ord.	Nome della pianta (1)	Azioni positive	Azioni non ricercate	*Osservazioni*
	I - GRUPPO DELLE AGARICINAE:			
40	*Armillaria mellea.*	Agglut. micr. del *B. aterrimus*; emolisi (fortissima).		Il potere emolitico è coctostabile.
	II - FAMIGLIA DELLE CACTACEAE:			
41	*Opuntia sp.* (cladodi).	Agglut. macr. p. *paratifo* A (notevole); precipit. (leggera); antiemolisi (notevole).		
	III - FAMIGLIA DELLE CAPRIFOLIACEAE:			
42	Sambuco (*Sambucus nigra*): foglie.			
	IV - FAMIGLIA DELLE CHENOPODIACEAE:			
43	Spinaci (*Spinacia oleracea*): foglie.	Agglut. macr. p. tutti e 5 i batteri morti; dopo 24 ore a 37°, immobili senza agglut. *B. vulgatus* e *aterrimus*; agglut. emazie (leggera); antiemolisi (notevole).		
	V - FAMIGLIA DELLE COMPOSITAE:			
44	Cicoria (*Cichorium intybus*): foglie.	Dopo 24 ore a 37° immobile senza agglut. *B. aterrimus*; aggl. emazie (leggera); antiemolisi (forte).	Aggl. micr. p. *B. asterosporus*.	
45	Indivia (*Cichorium Endivia*): foglie.	Dopo 24 ore a 37° imm. senza agglut. *B. putidum da citrioli*; notevoli l'agglut. emazie e l'antiemolisi.		Quanto detto vale pel succo *filtrato per carta*; quello *filtr. per amianto* agglutina le emazie, ma non è antiemolitico.
46	Scorzonera (*Scorzonera hispanica*): radici con foglie.	Agglut. macr. *tifo*, *paratifo* A, *paratifo* B, *melitense*; dopo 24 ore a 37° imm. senza agglut. b. *aterrimus*.	Aggl. micr. p. *B. asterosporus*.	

47	Topinambour (*Helianthus tuberosus*): tuberi.		Tutte le agglutinazioni.	
	VI - FAMIGLIA DELLE CRUCIFERAE:			
48	Cavolo (*Brassica oleracea*): foglie.	Agglut. macr. p. *tifo*, *parat.* A, *colera*; dopo 24 ore a 37° imm. senza agglut. *B. putidum da terra* e *B. asterosporus*; agglut. emazie (forte).		
49	Cavolfiore (Id. v. *botrytis*).			
a)	Cosidetto *fiore*.			
b)	Foglie.	Agglutinaz. emazie (notevole).		
50	Rapa (*Brassica rapa*): radice.			Dopo 24 ore a 37°, nella *goccia pendente* il *B. asterosporus* è sporificato.
	VII - FAMIGLIA DELLE CUCURBITACEAE:			
51	Cetriolo (*Cucumis sativus*): frutto.	Dopo 24 ore a 37° imm. senza aggl. il *B. asterosporus*.		
52	Zucchetta (*Cucurbita pepo*): frutto immaturo.	Dopo 24 ore a 37° imm. senza agglut. il *B. vulgatus* ed il *B. putidum da terra*.		
	VIII - FAMIGLIA DELLE LILIACEAE:			
53	Cipolla (*Allium cepa*): bulbo.	Agglut. macr. e micr. tutti i batt. sperimentati meno *B. putidum da citr.* che però immobilizza; precip. (notevole); agglut. emazie (notevole).	Agglut. micr. con *B. asterosporus* e *B. putidum da terra*.	
	IX - FAMIGLIA DELLE MORACEAE:			
54	Gelso (*Morus nigra*): foglie.			
	X - FAMIGLIA DELLE PAPILIONACEAE:			
55	Erba medica (*Medicago sativa*): fusto e foglie.	Dopo 24 ore a 37° imm. senza agglut. *B. aterrimus*, *asterosporus*, *putidum da terra*.		
56	Fagiolini (*Phaseolus vulgaris*): frutto immaturo.	Dopo 24 ore a 37°, tutto imm. senza agglut.	Agglut. micr. con *B. putidum da terra*.	
	XI - FAMIGLIA DELLE ROSACEAE:			
57	Pero (*Pirus communis*): frutto.			

(Seguito Tabella 5.)

Num. d'ord.	Nome della pianta (1)	Azioni positive	Azioni non ricercate	*Osservazioni*
	XII - FAMIGLIA DELLE RUTACEAE:			
58	Limone (*Citrus lemonum*): frutto.	Agglut. macr. di tutti e 5; micr. tutti imm., ma agglut. solo *putidum da citr.* e *aterrimus*; precip. (notevole); agglut. emazie (leggera); antiemolisi (notevole).	Agglut. micr. pel *B. asterosporus*.	
	XIII - FAMIGLIA DELLE SOLANACEAE:			
59	Melanzana (*Solanum melongena*): frutto.	Dopo 24 ore a 37° imm. senza agglut. *B. aterrimus*; agglut. emazie (leggera).	Antiemolisi.	
60	Patata bianca (*solanum tuberosum*): tubero.	Agglut. emazie ed antiemolisi (forti).	Agglut. micr. pel *B. asterosporus*.	Il potere antiemolitico è coctostabile, e non agisce a temperatura ambiente, ma solo a 37°.
61	Patata gialla (*solanim tuberosum*): tubero.	Agglut. emazie ed antiemolisi (fortissime).	Agglut. micr. pel *B. asterosporus*.	Il potere antiemolitico è coctostabile.
	XIV - FAMIGLIA DELLE UMBRELLIFERAE:			
62	Carota (*Daucus carota*): radice.	Agglut. macr. p. *colera* e *melitense* (leggera); in 24 ore a 37° imm. senza agglut. *B. vulgatus* ed *aterrimus*.	Agglut. micr. pel *B. asterosporus*.	Il succo usato per l'agglut. macr. di *tifo* e *paratifi* era filtrato per amianto alla centrifuga, quello del *colera* e *melitense* era filtrato per carta.
63	Prezzemolo (*Petroselinum sativum*): foglie.	Agglut. emazie (notevole).		
64	Sedano (*Apium graveolens*): fusto e foglie.	Agglut. macr. *tifo, paratifo A* e *B*; micr. imm. senza agglut. *B. aterrimus*; precip. (leggera).	Agglut. micr. per *B. vulgatus* e *B. asterosporus*.	
65	*Stachis* sp.: radici.	Agglut. macr. *tifo, paratifo A* e *B*; micr. tutti meno i due *putidum* che immobilizza; antiemolisi (notevole).	Agglut. micr. per *B. asterosporus*.	

(1) Secondo la classificazione dello STRASBURGER. Le famiglie sono in ordine alfabetico.

legno del gelso uno di quei risultati apparentemente positivi ma in realtà negativi, che ad osservatori più frettolosi avrebbero potuto suggerire conclusioni errate, sebbene brillanti. Assicuratici [con la citata prova su ramo reciso con sospensione di emazie in glucosio 5% (1)], che realmente non la sola emoglobina, ma anche lo stroma dell'emazia riesce a percorrere i vasi legnosi, noi ripetemmo la prova laccando le emazie di montone con acqua distillata: e il risultato fu interessante. La linfa da sola non dava emolisi; tra i controlli, i globuli soli (portati a volume con soluzione fisiologica) rimanevano inalterati, mentre le emazie più complemento (siero fresco di cavia) mostravano tracce di emolisi. Invece nella provetta in cui assieme ai globuli rossi di montone, si erano posti complemento e linfa, si aveva quasi constantemente una forte emolisi. Pareva dunque che la pianta avesse elaborato una sorta di ambocettore: ed apposite esperienze dimostravano che questo era più labile di quello zooimmunitario, essendo distrutto non solo da una breve ebullizione diretta, ma anche dal riscaldamento per mezz'ora a 56°C. Allora si rifece l'esperienza anche con inoculazione di emazie di cavallo e di coniglio, e con prove crociate di emolisi: e qui... si vide come stavano le cose, perchè le emolisi apparvero subito scarse, capricciose, ed assolutamente aspecifiche (talora più forti senza complemento che con, talvolta più intense con emazie diverse dell'antigeno, ecc.). Ma alla fine, fatti dei controlli con inoculazione sia di soluzione fisiologica, sia d'acqua distillata, ecco ripresentarsi, per le emazie di montone lo stesso comportamento di cui ora si è detto! —

Se con ciò risultava chiaro che non vi era formazione di emolisine, la presenza però di questa sostanza a comportamento di pseudoambocettore ci parve abbastanza interessante e degna di essere studiata un po' più a fondo, sia per l'eventuale parte che essa potesse avere nella difesa naturale della pianta, sia come contributo alla conoscenza delle sostanze emolitiche vegetali.

Riprendemmo perciò il problema escogitando alcune esperienze per chiarirlo.

Adottando il semplice apparecchio ed il metodo da noi descritto altrove (2) per raccogliere l'acqua ascendente per i vasi legnosi del gelso, ripetemmo 32 volte l'esperienza per la ricerca della sostanza in questione. Al ramo di gelso si faceva assorbire acqua distillata e, quando nel tubo superiore si era raccolta una quantità sufficiente di liquido, dopo averlo isotonizzato con l'aggiunta di 1/10 del suo volume di soluzione Na Cl all'8%, lo si saggiava per la ricerca dell'azione emolitica mettendolo a contatto, entro provettine, con emazie di montone (previamente defibrinate, lavate ripetutamente e sospese poi al 5% in soluzione fisiologica), con e senza l'aggiunta di complemento (siero fresco di cavia). Come controlli in altre provettine si ponevano il complemento più le emazie, e le emazie sole; il tutto portato ad eguale volume con soluzione fisiologica. Si lasciavano le provettine a 37° C. per un'ora e poi all'ambiente, facendo la lettura dopo alcune ore, e una seconda volta dopo 24 ore.

---

(1) Vedi pag. 124.

(2) Vedi « Tecnica » pag. 195 e segg.

In tutte queste prove abbiamo avuto costantemente il medesimo risultato: nella provettima ove alla linfa si aggiungeva complemento, l'emolisi era assai forte, mentre la linfa da sola spesso agglutinava le emazie, ma non dava mai emolisi. E quando adoperavasi complemento di per sè lievemente emolitico, l'emolisi del sistema completo: linfa complemento emazie, era sempre nettamente superiore al controllo complemento più emazie sole. Verosimilmente i risultati capricciosi ottenuti allorquando facevamo assorbire ai rami emazie diverse, erano legati alla emoglobina che passava attraverso i vasi del legno, od alla soluzione fisiologica con la quale talvolta sperimentammo e che indubbiamente alteravano il liquido di salita.

Un'altra constatazione ebbimo occasione di fare nell'eseguire queste prove: l'influenza della stagione sull'intensità dell'emolisi. Già nelle prime prove fatte nell'autunno 1924 avevamo notato come l'emolisi si andasse facendo sempre meno forte con il declinare del periodo vegetativo della pianta. Il medesimo fatto l'abbiamo constatato quest'anno. Mentre le emolisi eseguite nel mese di giugno, luglio, agosto, erano assai forti, le ultime, dei mesi di ottobre e novembre, si sono fatte sempre più deboli ed interessanti solamente parte dei globuli rossi messi a reagire. Questa constatazione ci ha, naturalmente, fatto pensare che la sostanza emolitica fosse elaborata dalle cellule vive della pianta e probabilmente da quelle che accompagnano i vasi legnosi e pare abbiano parte nel fenomeno della salita dell'acqua attraverso i medesimi.

Allo scopo di sincerarci prima se eventuali sostanze non potessero dalla corteccia dei rami passare nell'acqua distillata, nella quale i rami in esperimento erano posti, per poi essere portate con l'acqua di salita nel liquido in esame e cosí alterare o mascherare le nostre prove, eseguimmo diverse esperienze con rami accuratamente scortecciati per tutta l'altezza d'immersione nell'acqua. Anzi in molte esperienze fatte con altri scopi mantenemmo ancora questa precauzione; tuttavia, nessuna differenza notammo mai nei risultati, fra rami scortecciati e rami lasciati normali.

Allo stesso scopo provammo pure il potere emolitico dell'acqua distillata dopo avervi lasciato i rami in prova a pescare per alcune ore, solitamente fino a quando si prelevava l'acqua raccoltasi nel tubo superiore. Queste prove eseguite più volte (naturalmente previa isotonizzazione) diedero sempre esito negativo.

Sovente le nostre prove le praticavamo in doppio cioè un ramo veniva diviso in due parti sulle quali ripetevamo la medesima esperienza. In queste occasioni ebbimo l'opportunità di notare come l'emolisi fosse sempre superiore per l'acqua di salita della parte inferiore del ramo rispetto a quella della parte superiore.

Parallelamente si notò che la quantità di acqua salita nello stesso tempo, nel pezzo di ramo inferiore, il più grosso, era maggiore di quella salita nel pezzo di ramo superiore, di diametro più piccolo.

Pensammo allora di sottoporre i vasi legnosi ad una, diremo cosí, lavatura che ne asportasse per quanto possibile, la sostanza in questione, per poi constatare se lasciata la pianta in riposo, essa ricomparisse. Saggiata prima l'acqua di salita per la prova di emolisi e risultata questa positiva come il solito, si univa mediante un tubo di gomma il tubo a *T* posto in sommità del ramo in esperimento, con un matraccio a pareti robuste, e questo alla sua volta veniva posto in comunicazione per mezzo di un altro tubo di gomma, colla pompa pneumatica. Praticata una forte depressione in breve l'acqua nella quale il ramo stava a pescare, saliva nel tubo a *T* e di qui passava nel matraccio. Si faceva cosí passare una notevole quantità di acqua (100—150 cmc.) dopo di che sulle ultime parti di acqua salita si provava il potere emolitico con la consueta tecnica.

I risultati sono sempre stati concordi: subito dopo il lavaggio nessuna emolisi, o talvolta assai lieve e notevolmente inferiore a quella ottenuta con lo stesso ramo prima del lavaggio. Staccato il ramo dal matraccio e lasciato come per il consueto con il tubo a *T* in debole depressione (30 — 35 cm. di mercurio) per alcune ore (3—24) l'acqua raccoltasi nel tubetto veniva nuovamente riprovata e nuovamente l'azione emolitica in presenza di complemento si faceva nettamente vedere.

Questi risultati ci facevano pensare che la sostanza potesse realmente essere elaborata dalle cellule vive e da queste ceduta a poco a poco all'acqua di salita. Volemmo allora vedere se in rami uccisi essa si trovasse ancora. A tale scopo lasciammo un pezzo di ramo in pentola di Koch per venti minuti, e poi, raffreddato, lo montammo come il solito ricercando dopo qualche ora nell'acqua raccoltasi nel tubo superiore l'azione emolitica: la prova diede risultato positivo. Provammo pure ad uccidere un ramo facendogli assorbire etere per alcune ore (16—18); e dopo un lavaggio dei vasi per asportarne anche le tracce lo lasciammo montato come il solito in acqua. Anche in questo caso la prova dell'emolisi ebbe esito nettamente positivo, pari al ramo normale di controllo che parallelamente erasi provato.

Provammo ancora, una sola volta però, a sottoporre un ramo trattato col calore (35 minuti a 120° C. in autoclave) ed uno normale, che serviva di controllo, al cosidetto lavaggio dei vasi. Prima di sottoporli a questa operazione saggiammo il potere emolitico dell'acqua di salita, ottenendo esito positivo per entrambi. Eseguito con eguale modalità il lavaggio ai due rami si ricercò il potere emolitico dell'acqua salita ottenendo esito negativo per il ramo cotto, e lieve emolisi per il normale. Rimontati e lasciati in condizioni normali di depressione per alcune ore, ad una terza ricerca dell'attività emolitica ottenemmo una emolisi leggera ma netta per il ramo normale e negativa per quello cotto. La prova fu ripetuta un'altra volta, con esito eguale, soltanto su ramo cotto, senza il detto controllo. Un ramo ucciso con etere e sottoposto quindi ad identiche prove ci diede risultati eguali: prima del lavaggio: emolisi; dopo il lavaggio e seguente periodo di depressione normale: lievi traccie di emolisi.

Questi risultati collegati con quelli ottenuti praticando il lavaggio dei vasi nei rami vivi, per quello che la diversità di stagione e l'esiguo numero di prove ci permette di arguire, parrebbero confortarci nella nostra ipotesi sull'origine della emolisina. D'altro lato questi risultati stessi ci mostrerebbero la nostra sostanza come sicuramente termoresistente mentre prove eseguite *in vitro* ci diedero risultati perfettamente contrari. Alcuni cmc. di liquido di salita vennero divisi in tre porzioni. Una prima tenuta 45 minuti a 55°-56° C., una seconda portata all'ebollizione diretta per alcuni minuti, una terza lasciata inalterata. Poste tutte e tre a reagire con emazie di montone e complemento, mentre quella inalterata diede la solita emolisi, quella bollita e quella tenuta a 55°-56° C. diedero risultati negativi. *In vitro* dunque la nostra sostanza continuava a mostrarsi nettamente termolabile come fin dalle primissime esperienze avevamo constatato.

Questa apparente contraddizione ha certamente sede in qualche fatto che a noi sfugge e che ha bisogno ancora di essere approfondito.

Tutto un gruppo di esperienze fu da noi dedicato all'indagine della natura del nostro pseudo-ambocettore, o almeno del meccanismo dell'emolisi da esso determinata.

Innanzi tutte possiamo mettere, in questo gruppo di prove, ricerche eseguite per definire se una eventuale variazione di acidità dell'acqua passata attraverso il ramo fosse origine dell'emolisi. A questo intento confrontammo le concentrazioni di ione idrogeno dell'acqua posta nel vaso inferiore e di quella raccoltasi nel tubo a *T*, aggiungendo a 9 parti dei rispettivi liquidi una parte di soluzione di Bleu di Bromotimolo al 0,04%. La colorazione risultò perfettamente eguale nei due liquidi escludendo con ciò una variazione di acidità entro i limiti della sensibilità del metodo. Anche la causa da noi immaginata veniva cosí ad essere scartata.

In tutte le prove da noi fatte si era sempre adoperato come complemento del siero fresco di cavia. Si pensò di provare il siero di cavia inattivato, e sieri di altri animali, freschi e inattivati a 56° C. per 45 minuti. Eseguimmo una serie di prove, fatte sempre in doppio, adoperando cioè le due parti di un medesimo ramo tagliato. Le acque salite dopo alcune ore venivano isotonizzate, e poi messe a contatto di emazie di montone più l'aggiunta di siero fresco e rispettivamente inattivato di cavia, di uomo, di montone, di cavallo e di coniglio.

I risultati sono raccolti nella tabella *A*.

TABELLA *A*.

SIERI	Liquido I	Liquido II	Emazie di montone	Sieri	Soluzione fisiologica	RISULTATI
Controlli generali	½	0	½	0	1	(— — —) ed aggl.
	0	½	½	0	1	(— — —) ed aggl.
	0	0	½	0	1½	(— — —)
Cavia fresco	½	0	½	½	½	(+ + —)
	0	½	½	½	½	(+ + —)
Controllo	0	0	½	½	1	(— — —)
Cavia inattiv.	½	0	½	½	½	(± — —) ed aggl.
	0	½	½	½	½	(± — —) ed aggl.
Controllo	0	0	½	½	1	(— — —)
Umano fresco	½	0	½	½	½	(+ + —)
	0	½	½	½	½	(+ + —)
Controllo	0	0	½	½	1	(+ + +)
Umano inattiv.	½	0	½	½	½	(± — —) ed aggl.
	0	½	½	½	½	(± — —) ed aggl.
Controllo	0	0	½	½	1	(+ — —)
Montone fresco	½	0	½	½	½	(± — —)
	0	½	½	½	½	(+ — —)
Controllo	0	0	½	½	1	(— — —)
Montone inattiv.	½	0	½	½	½	(— — —)
	0	½	½	½	½	(± — —) ed aggl.
Controllo	0	0	½	½	1	(— — —)
Cavallo fresco	½	0	½	½	½	(± — —) ed aggl.
	0	½	½	½	½	(± — —) ed aggl.
Controllo	0	0	½	½	1	(+ — —)
Cavallo inattiv.	½	0	½	½	½	(± — —) ed aggl.
	0	½	½	½	½	(± — —) ed aggl.
Controllo	0	0	½	½	1	(— — —)
Coniglio fresco	½	0	½	½	½	(— — —) ed aggl.
	0	½	½	½	½	(± — —) ed aggl.
Controllo	0	0	½	½	1	(— — —)
Coniglio inattiv.	½	0	½	½	½	(± — —) ed aggl.
	0	½	½	½	½	(± — —) ed aggl.
Controllo	0	0	½	½	½	(+ — —)

Con liquido I s'intende l'acqua di salita della parte alta del ramo diviso in due.
Con liquido II s'intende quello della parte bassa.

Si provò pure l'attività emolitica della sostanza in istudio rispetto le emazie di diversi animali, in presenza di complemento (siero fresco di cavia).

Un ramo venne diviso al solito in due parti, montate ciascuna con il solito apparecchio. Si raccolse l'acqua salita che si saggiò con globuli rossi di montone, cavallo, bue, coniglio e cavia, defibrinati, lavati ripetutamente e sospesi al 5% in soluzione fisiologica.

Si ebbe, come il consueto, l'emolisi pei globuli di montone, e parimenti per quelli di cavallo e di bue, lievi tracce per quelli di cavia

TABELLA *B.*

EMAZIE	Liquido I	Liquido II	Siero fresco di cavia	Emazie	Soluzione fisiologica	RISULTATI
Montone	½	0	½	½	½	(+ + —)
	0	½	½	½	½	(+ + —)
Controlli	0	0	0	½	1 ½	(— — —)
	0	0	½	½	1	(+ — —)
	½	0	0	½	1	(— — —) ed aggl.
Cavallo	½	0	½	½	½	(+ + —)
	0	½	½	½	½	(+ + —)
Controlli	0	0	0	½	1 ½	(— — —)
	0	0	½	½	1	(+ — —)
	½	0	0	½	1	(— — —) ed aggl.
	0	½	0	½	1	(— — —) ed aggl.
Bue	½	0	½	½	½	(+ + —)
	0	½	½	½	½	(+ + —)
Controlli	0	0	0	½	1 ½	(— — —)
	0	0	½	½	1	(— — —)
	½	0	0	½	1	(— — —)
	0	½	0	½	1	(— — —)
Coniglio	½	0	½	½	½	(— — —)
	0	½	½	½	½	(— — —)
Controlli	0	0	0	½	1 ½	(— — —)
	0	0	½	½	1	(— — —)
	½	0	0	½	1	(— — —) ed aggl.
	0	½	0	½	1	(— — —) ed aggl.
Cavia	½	0	½	½	½	(± — —)
	0	½	½	½	½	(± — —)
Controlli	0	0	0	½	1 ½	(+ — —)
	0	0	½	½	1	(+ — —)
	½	0	0	½	1	(± — —)

ma inferiori al controllo (emazie sole e soluzione fisiologica), e nulla per quelli di coniglio.

Raccogliamo pure questi risultati con i relativi controlli nella tabella *B*.

La nostra sostanza, dunque, mentre emolizza assai bene i globuli rossi di montone, cavallo e bue, fra quelli provati, e quindi non dimostra specificità assoluta rispetto le emazie; è nettamente influenzata dal siero che deve fungere da complemento. Fra i sieri provati solo con quello fresco di cavia si ottiene una spiccata emolisi, mentre con quello umano di per sè emolitico per le emazie di montone, il liquido esplica una sensibile azione antiemolitica e lo stesso si dica per i sieri di cavallo e di coniglio. Notevole il fatto che in tutti questi casi di mancata o di lieve emolisi, come in quasi tutti i controlli nei quali si poneva solo il liquido in esame a contatto delle emazie, si aveva una più o meno spiccata agglutinazione dei globuli.

Nella tabella *C* confrontiamo i risultati ottenuti nelle nostre prove con la graduazione delle emazie di animali diversi in ordine

TABELLA *C*.

	ESPERIENZE NOSTRE	CLASSIFICAZ. DEL BORY	
	Sieri in ordine decrescente di emolisi	Sieri in ordine decrescente di emolisi	
Emazie di montone	1 Cavia 2 Montone 3 Coniglio 4 Cavallo 5 Uomo	1 Bue 2 Cavallo 3 Montone 4 Coniglio 5 Cavia	Emazie di cavia
	Emazie in ordine decrescente di resistenza	Emazie in ordine decrescente di resistenza	
Siero fresco di cavia	1 Cavia 2 Coniglio 3 Bue 4 Cavallo 5 Montone	1 Bue 2 Montone 3 Cavallo 4 Coniglio 5 Cavia	Siero di porco fresco

decrescente di resistenza agli agenti emolitici; e col potere emolitico decrescente dei sieri normali. Ambedue le gradazioni sono desunte dal Bory.

Anche se i globuli tèsto per la classificazione del Bory sono quelli di cavia anzichè di montone, la relazione di confronto sussiste egualmente; lo stesso dicasi per la classificazione della resistenza dei globuli. Da questo confronto e dai dati prima esposti, risulta evidente che l'azione emolitica della nostra sostanza è indipendente e dal potere emolitico spontaneo dei sieri e dalla resistenza naturale delle emazie all'azione delle altre sostanze emolitiche.

Sempre nell'intento di studiare l'azione emolitica della nostra sostanza la volemmo cimentare, anzichè in presenza di complemento, con agenti emolitici di altra natura fra i quali prescegliemmo soluzioni di saponina e soluzioni ipotoniche di Na Cl. Determinata prima la diluizione minima emolizzante della saponina da noi usata che trovammo tra 1:90.000 e 1:100.000, eseguimmo le solite prove aggiungendo ai liquidi isotonizzati dei rami in esperimento, emazie di montone e soluzione di saponina.

Parallelamente come controllo provammo l'azione della saponina da sola, e del liquido con il complemento di cavia. Il risultato fu assai interessante. Mentre la saponina sola e il sistema: liquido in prova più complemento più emazie, davano emolisi, nella provetta ove al complemento si era sostituita la soluzione di saponina, l'emolisi era assolutamente negativa. Ripetemmo la prova adoperando una soluzione più forte di saponina (1:50.000); il risultato fu eguale. La nostra sostanza non solo non dava emolisi in presenza di saponina ma esplicava netta azione antiemolitica rispetto la saponina stessa.

Risultati eguali ottenemmo con le soluzioni ipotoniche. Anche qui determinammo la ipotonia minima emolizzante per le emazie di montone adoperate, poi cimentammo la nostra sostanza in presenza di tale soluzione accompagnata da controlli analoghi. Anche per la soluzione ipotonica volemmo ripetere le prove con soluzioni più diluite e perciò di più spiccata attività emolitica; in ambo i casi la nostra sostanza non diede emolisi in presenza della soluzione ipotonica, non solo, ma anche qui esplicò la sua attività antiemolitica inibendo od attenuando l'emolisi determinata dall'ipotonia ».

Raffrontando le nostre esperienze con le altrui e considerando, di queste ultime, anzitutto quelle che sono comuni ad un maggior numero di sperimentatori, possiamo ricavare qualche dato sufficiente a darci un'idea complessiva di questo gruppo di pseudoanticorpi.

TABELLA *D*.

EMAZIE IN ORDINE DECRESCENTE DI SENSIBILITÀ (1).

EMAZIE	PSEUDOANTICORPI.				Patata (agglutin.)
	Cotyledon (aggl. e emol.)	Linfa gelso (aggl. e emol.)	Ricina (aggl. e emol.)	Abrina (aggl. e emol.)	
Montone	1	1	5	4	7
Cavallo	4	2	6	2	9
Bue	–	3	5	4	8
Coniglio	–	4	3	3	2
Cavia	–	5	1	4	4
Uomo	–	–	3	4	3
Maiale	–	–	4	4	5
Cane	–	–	2	1	–
Gatto	–	–	3	3	–
Riccio	–	–	6	3	–
Piccione	–	–	1	4	–
Pollo	–	–	3	4	–
Rana	3	–	5	–	–
Ratto	–	–	3	–	1
Topolino	–	–	–	–	6
Oca	2	–	–	–	–
Capra	–	–	2	–	–
Rospo (Bufo cinereus) ...	–	–	5	–	–
Cyclopterus lumpus	–	–	5	–	–

---

(1) Per alcuni pseudoanticorpi, diverse emazie reagiscono con eguale intensità; perciò esse sono aggruppate sotto uno stesso numero progressivo.

Anzitutto, per ognuno di questi varia il grado di sensibilità delle diverse emazie (v. tab. *D*). Quanto al comportamento rispetto alla temperatura, vi sono delle pseudoemolisine coctostabili (saponine) o almeno termostabili (succo ed estratto di *Armillaria mellea*), delle altre sono invece termolabili, come quello dell'*Ammanita phalloides* e di vari funghi mangerecci (FERRI), e quella del succo di patata, che si distrugge in un'ora a 56° C. L'emolisina studiata da KRITSCHEWSKY nel succo di *Cotyledon Scheideckeri* si inattiva intorno ai 100° C. e si riattiva a 144° C., analogamente all'emolisina stafilococcica, che si inattiva a 65° C. e si riattiva a 100° C.; l'acido elvellico, che conferisce proprietà emolitiche ai funghi che lo contengono, è distrutto non solo dalla cottura, ma anche dall'essiccamento; esso non dà soltanto emolisi *in vitro* ma anche *in vivo* (emoglobinuria). L'emolisina di *Amanita ampla* e di *Volvaria gloiocephala* è parzialmente distillabile; il distillato agisce sulle emazie di bue, ma non su quelle di tinca, lucertola, rana (PETTINARI).

L'intensità dell'azione emolitica varia senza regole note, così come avviene per la maggior parte dei pseudoanticorpi vegetali.

Le pseudoemolisine si possono, generalmente, fissare sulle emazie (*Cotyledon*, *Armillaria*), ma quella del *Cotyledon* non può più esserne distaccata, per riscaldamento a 45° od a 75° C. per un'ora.

L'aggiunta di siero (di cavallo) inibisce l'azione emolitica del succo di *Cotyledon*, provocandovi la formazione di un precipitato: l'emolisina non passa per candela Chamberland. Tutto un gruppo di sostanze aventi azione emolitica (fitotossine) ha spiccate proprietà antigene, che mancano invece ad altri gruppi (saponine, ecc.).

I fattori emoagglutinanti, come abbiamo visto, possono trovarsi accompagnati, o no, da quelli emolizzanti e dagli antiemolitici. A volte il comportamento dell'emoagglutinina è cosí simile a quello dell'emolisina, da giustificare il sospetto che si tratti di una sostanza unica a duplice azione: cosí nelle fitotossine e nel succo di *Cotyledon*, nel quale anche nella fissazione sugli eritrociti le due sostanze si comportano identicamente, sí da non potersi ricorrere a tal metodo per separarle. Ma nel *Cotyledon*, egual comportamento colle precedenti hanno pure le precipitine e le batterioagglutinine; sí che potrebbe trattarsi d'una sostanza a quadruplice azione.

Altre volte invece, l'emolisina è assai più termolabile dell'emoagglutinina, poichè la prima si distrugge, come abbiamo visto, in un'ora a 60° C., e la seconda comincia a indebolirsi al disopra di questa temperatura, e resiste parzialmente anche ad un'ora a 100° C. L'emoagglutinina della patata resiste per due mesi in ghiacciaia, non è alterata nè precipitata dall'aggiunta del 0,5% di fenolo, nè da quella di un volume d'alcool (che precipita invece altri costituenti del succo); viene fissata, però aspecificamente, dalle emazie, ma può essere nuovamente liberata (al contrario di quella di *Cotyledon*) riscaldando le emazie caricàtene, per 20 minuti a 56° (col che, inoltre, queste si disagglutinano); è impedita dall'aggiunta di siero umano, ma con differenze quantitative da un siero all'altro. La sua azione è quantitativamente diversa dalle emazie di un uomo a quelle di un altro; le emazie la fissano anche se esse siano state previamente riscaldate per 5' a 100° C. (Marcusson-Begun). La sostanza emoagglutinante ed antiemolitica del lauroceraso è talora distrutta e talaltra rispettata dalla filtrazione per amianto alla centrifuga. Le pseudoemoagglutinine delle piante appaiono intimamente legate alle sostanze di riserva, se pur non si possa asserire ancora che esse pure siano tali. Dai tuberi di patata, esse scompaiono col germogliamento: ed in *Phaseolus multiflorus*, *Ricinus communis*, *Datura stramonium*, compaiono nel seme quando ha raggiunto un certo grado di maturazione, per scomparire nuovamente alla germinazione. In genere esse sono contenute solo in organi deputati all'accumulo di sostanze varie di riserva, e mancano nel rimanente della pianta: così si rinvengono nei tuberi di patata e topinambour, nei semi citati ed in alcuni altri, nel latice di euforbie (mentre mancano nelle foglie, fusti, radici, stami, polline, ovario dello stesso *Phaseolus multiflorus*), ed in certe epoche della vegetazione si rinvengono pure nei tubercoli radicali del citato *Phaseolus* (Eisler e Portheim). Questa interpretazione della funzione delle sostanze emoagglutinanti trova nelle nostre ricerche alcune conferme, in quanto le abbiamo viste presenti anche nel bulbo della cipolla: ma per le varie foglie che pure ne contengono (indivia, spinaci, cicoria, cavolo, cavolfiore) non saprei se si debba dire altrettanto. La loro presenza, invece, nella linfa del legno del gelso, ed in condizioni tali da dimostrarsi legata alla vitalità della pianta, può mettersi forse in rapporto col fatto che per questa linfa possono appunto circolare anche sostanze di riserva (vedi pag. 118).

Abbiamo visto, infine, come le proprietà antiemolitiche possano trovarsi tanto sole quanto accompagnate dall'emoagglutinazione, o da questa e dall'emolisi ad un tempo. Nella patata agglutinazione ed antiemolisi, quando esistono, si comportano come dovute ad una sostanza unica; altrettanto può dirsi pel « fattore antiemolitico » che dalle bucce dell'uva passa ai vini, mostrandosi però assai più abbondante nei rossi che nei bianchi (Rusconi).

Quanto al meccanismo d'azione, l'emolisina-agglutinina del *Cotyledon* si fissa alle emazie con maggiore avidità dell'ambocettore zooimmunitario, il quale non può perciò attaccarsi ad esse e cosí porre in azione il complemento.

Non è invece noto, per questo pseudoanticorpo, il meccanismo col quale esso inibisce l'emolisi da ipotonia.

Il « fattore antiemolitico dei vini » fu studiato solo nei riguardi dell'inibizione dell'emolisi da saponina e talora anche da ipotonia. Esso consta, in realtà, di due frazioni, una delle quali è solubile tanto in alcool a 95° quanto in acqua alcoolica al 10%, mentre l'altro non si scioglie nell'alcool più concentrato. Per tutto il rimanente, però, il comportamento delle due frazioni appare eguale. Da entrambe, o dal loro complesso, si può asportare, senza danneggiarle, la sostanza colorante con carbone animale e con corde di violino: esse vengono invece eliminate dalla gelatina, dall'albume d'uovo, dal siero; reagiscono leggermente acide al tornasole, sono insolubili in cloroformio, etere etilico, benzolo, etere di petrolio; danno precipitato bruno sia con cloruro ferrico sia con tartaro emetico e sono precipitate dall'urotropina (reazioni dei tannini). La loro azione antiemolitica non è dovuta ad eliminazione della saponina ma ad un'azione diretta sulle emazie, le quali, dopo un contatto pur assai breve col vino, divengono quasi inattaccabili tanto dalla saponina quanto dall'ipotonia, ed ancora dall'emolisina di *Bacterium piocyaneum*. Quest'azione non dipende dal fatto che le sostanze attive contengano eventualmente l'ossidrile fenolico, perchè sono privi d'azione antiemolitica il fenolo, i tre difenoli isomeri (pirocatechina, resorcina, idrochinone) ed il pirogallolo; e può invece mettersi in relazione con la citata presenza di tannini, perchè il tannino della noce di galla agisce egualmente ad esse e con egual meccanismo.

Sostanze antiemolitiche aspecifiche, coctostabili, dializzabili e filtrabili per candela, che si fissano sulle emazie con grande rapidità e con avidità maggiore che non l'ambocettore, sono state rinvenute nelle culture del batterio difterico (Ciuffo) e nei liquidi d'autolisi dei tessuti animali (Centanni, citato da Ciuffo).

Il quadro che ho così schizzato dei pseudoanticorpi agenti sulle emazie non ha certo la pretesa di essere completo; ma mi sembra sufficiente a dare un'idea dei fatti essenziali, ed in pari tempo a dimostrare di quanti errori possano esser causa queste sostanze, ogni volta che ci si accinga a studiare sulle piante le reazioni immunitarie nelle quali entra, direttamente od indirettamente, l'impiego di emazie.

Ma non voglio chiudere questo paragrafo senza aver attirato l'attenzione degli studiosi, sull'opportunità che tutto lo studio di questo gruppo di sostanze vegetali — che, dal nostro punto di vista, abbiamo considerate come pseudoanticorpi — sia ripreso con intendimenti più sintetici e più sistematici.

b) *Pseudobatterioagglutinine.* — Le pseudoagglutinine batteriche furono dapprima riconosciute da EISLER e PORTHEIM in estratti di *Phaseolus vulgaris,* ma il KRITCHEWSKY non poté confermare la asserzione di questi AA. Comunque, spetta appunto al KRITSCHEWSKY il merito di avere per primo sottoposto ad uno studio minuzioso l'azione batterioagglutinante del succo d'una pianta, e più precisamente di *Cotyledon Scheideckeri* hort. Essa si esplica su *B. typhi, V. cholerae, B. tuberculosis hominis* omogeneo, colla saltuarietà quali- e quantitativa caratteristica dei pseudoanticorpi, ed è presente non solo nelle foglie di questa pianta grassa, ma anche nel suo fusto. Sostanze batterioagglutinanti si rinvengono pure nel succo di tuberi di patata (WAGNER, VIGLIANO) come nelle foglie di *Sempervivum Haussmanii* (WAGNER), dove esse si comportano come le battericide; nel succo dei cladodi di *Opuntia* (PICADO, VIGLIANO); nel succo di pressione di *Armillaria mellea,* frutto di limone, bulbo di cipolla, radici di *Stachis* e di carota, foglie di cavolo, di spinacio, di sedano, di scorzonera (VIGLIANO); nell'estratto acquoso di foglie di lauroceraso (CARBONE ed ARNAUDI); talora nella linfa del libro, e più raramente in quella del legno, di gelso (CARBONE e ARNAUDI); nella linfa elaborata del salice (CARBONE e ARNAUDI). Tutte queste sostanze presentano assai spiccata la pseudospecificità (v. tab. 5 e 6).

Un particolare tipo di pseudoagglutinazione è stato descritto da KOŘINEK nell'azione del succo di tumori e di radici sane di *Beta vulgaris* inoculata con *B. tumefaciens* sul proprio antigeno: perchè qui il deposito flocculato è costituito da batteri che si radunano, per attrazione chemotattica e di superficie, intorno a cristalli (probabilmente, di zucchero) formatisi nel succo.

Sulla natura delle pseudo-agglutinine batteriche vi sono alcune ricerche, del tutto insufficienti però a chiarire interamente la questione. La filtrazione per candela *Chamberland F* trattiene o distrugge la pseudoagglutinina di *Cotyledon* (KRITSCHEWSKY) e quella dell'estratto di foglie di lauroceraso (CARBONE e ARNAUDI) mentre non agisce sulle sostanze agglutinanti del succo di tubercoli delle leguminose (CAPPELLETTI); la filtrazione per amianto alla centrifuga (metodo VIGANÒ) distrugge quella del lauroceraso, e probabilmente anche quella di radice di carota (che non è invece influenzata dalla filtrazione su carta) ma abbassa anche il titolo dei sieri agglutinanti. La pseudoagglutinina delle foglie di lauroceraso resiste al riscaldamento in bagno maria bollente per un'ora ma è distrutta in pochi minuti dall'ebullizione diretta. Invece quella di *Cotyledon Scheideckeri* ha un alto grado di termostabilità; il suo limite di resistenza è infatti 134° C., mentre essa è sempre distrutta a 144° C. Questo pseudoanticorpo non è attaccato dalla pepsina nè dalla tripsina, (al contrario di quanto avviene per la ricina purificata), si inattiva più o meno completamente se tenuta a 37° per quattro giorni, ed anche per lunga conservazione in ghiacciaia; è dializzabile solo in parte (KRITSCHEWSKY); non è ostacolata dalla presenza di siero di cavallo. Per la pseudoagglutinina del *Cotyledon* come per quella del lauroceraso, l'intensità e la velocità di agglutinazione diminuiscono con l'aumentare della diluizione, sicchè si può dosarle coi metodi in uso per i sieri. Dopo aggiunta di batterî e centrifugazione il succo di *Cotyledon* perde il suo potere agglutinante: l'assorbimento non è però specifico, perchè facendo la saturazione con *B. typhi* si perde anche il potere agglutinante anticolera. La massa microbica agglutinata e lavata non cede più lo pseudoanticorpo per sospensione in soluzione fisiologica e riscaldamento per un'ora sia a 45° C., sia a 75° C. con o senza aggiunta di acido cloridrico (KRITSCHEWSKY).

L'intensità del potere agglutinante dell'estratto acquoso di foglie di lauroceraso è indipendente dalla presumibile età della foglia, e dal colore dell'estratto (che, a pari diluizione, può variare dal verdognolo chiaro al giallo-bruno intenso). Non si può inoltre farla dipendere strettamente dal pH, perchè se è vero che in genere sono meno o per nulla agglutinanti gli estratti con pH. elevato, e che la filtra-

TABELLA 6 *a*. — PSEUDOAGGLUTININE.

Nº progressivo	Tecnica	Agglutinazione di			
		Bact. thyphi	Bact. paratifo A	Bact. paratifo B	Dissent. Shiga
66 { Piante 1, 2, 3, Pianta 4 }	III *b* (laurocer.)	+ + + + + +			
67	III (gelso)	—			
68	I *B′* (gelso)	—	—	—	
69	I *B′* (gelso)	—			
70	I *A′* (laurocer.)	—			
71	I *A′* (laurocer.)	—			
72	I *A′* (laurocer.)	—			
73	I *B″* (laur. su gelso) con eosina	—			

TABELLA 6 *b*. — PSEUDOAGGLUTININE

Nº progressivo	Tecnica	Agglutinazione di			
		Bact. typhi	Bact. paratifo A	Bact. paratifo B	Dissent. Shiga
74	II (gelso, giovani rami)..	+ + +			
75	II (gelso, gettate dell'anno)	—		—	
76	II (gelso)..............	—	—	—	—
77	II (gelso)..............	—			
78	II (salice, giov. gettate)..	+ + +			

(LINFA DEL LEGNO).

Dissent. Flexner	Bact. coli	Vibrio cholerae asiat.	M. melitensis	*Osservazioni*
		—	—	
		—	+ +	
		—		
	—	—		
	—	—		Prelievo del liquido dopo 48 ore d'immersione in acqua distillata, lettura dei risultati dopo 1 ora e dopo 24 ore a 37° C.
	—	—		Lettura dei risultati dopo 24 ore a 37° C.
	—	—		
	—	—		
	+	—		Lettura dopo 20 ore a 37° C.

(LINFA DEL LIBRO).

Dissent. Flexner	Bact. coli	Vibrio cholerae asiat.	M. melitensis	*Osservazioni*
		+ + +		
	—	—		Lettura dopo 24 e 48 ore a 37° C.
—	—	—	—	Lettura dopo 48 ore a 37° C.
				Lettura dopo 20 ore a 37° C.
	+ + +	+ + +		

zione alza il pH. ed abbassa il potere agglutinante, è pur vero per contro, da un lato, che l'ebullizione abolisce l'agglutinazione senza toccare il pH. e dall'altro, che estratti con pH. identico possono avere opposto comportamento (v. tab. 7).

c) *Pseudoprecipitine.* — Diverse fitalbumine (ricina, abrina, crotina, estratti di semi di mais, di avena, di fagiolo) provocano la precipitazione di alcuni sieri. La pseudoprecipitina del succo di *Cotyledon Scheideckeri* è stata scoperta e studiata dal KRITSCHEWSKY: essa agisce su estratti di *B. typhi* e di *V. cholerae asiaticae;* sul siero di cavallo: sull'albumina d'uovo, di sangue, vegetale (preparati MERK); sulla mucina, sul nucleoproteide del bacillo difterico, sul peptone Witte e su una serie di sostanze probabilmente impure per tracce di proteici (orina, in cui le ordinarie reazioni dell'albumina erano negative ma nella quale è stata dimostrata la costante presenza d'una proteina [RUSCONI]; emulsina KAHLBAUM, Diastasa Abs. Japan III MERK, Pepsin solub. Ross. VI MERCK, tripsina MERK, triptofano, glicogeno purissimo MERK); non dà invece intorbidamento con soluzioni di tirosina, glicocolla, asparagina, alanina, guanina, xantina, urea, indolo, acido ippurico, inulina, mannite, raffinosio, glucosio, destrina.

Il siero di cavallo è precipitato dai succhi di spremitura del bulbo di cipolla, delle foglie di sedano, dei cladodi di *Opuntia*, ed anche — verosimilmente soltanto per banale coagulazione da acidità — dal sugo di limone (VIGLIANO, v. tab. 5).

In rami recisi o piante vive di gelso e di lauroceraso, l'assorbimento di albumine (siero di cavallo, di cavia, umano) dà risultati di non facile interpretazione, ma forse riferibili all'esistenza di pseudoprecipitine (v. tab. 8); le esperienze in proposito sono però viziate dal fatto, che il siero può essere flocculato anche dalla semplice aggiunta di acqua, mentre d'altro lato non è consigliabile far attraversare i vasi legnosi da soluzione clorurosodica, perchè questa esplica un'azione dannosa sulla pianta (v. tab. 8 e 9).

Sulla natura e meccanismo d'azione delle pseudoprecipitine, poco ne sappiamo.

Per le fitoalbumine, la precipitazione è generalmente impedita dalla presenza di grandi quantità di albumina; ciò può anche manifestarsi con l'assenza completa di precipitazione quando il rapporto fra la soluzione proteica (siero) ed il succo pseudoprecipitante superi una certa cifra, variabile però a seconda della specie zoologica da cui proviene il siero. Così la ricina presenta questo fenomeno di fronte al siero umano e di cavallo, e non a quelli di capra, maiale, montone, coniglio, bue, pollo, oca, anitra, capra. Lo pseudoanticorpo del *Cotyledon* dà precipitazione anche quando a cmc. 0,1 di succo si aggiungono cmc. 0,9 di siero di cavallo; però anche per esso si raggiunge un titolo molto più alto quando la titolazione del potere precipitante pel siero si fa mantenendo fissa la quantità del succo e facendo variare quella del siero, che non operando all'opposto. E che ciò derivi dall'azione dell'albumina può dedursi dal fatto, che il contrasto fra i due titoli diviene molto minore quando, invece che rispetto al siero di cavallo, la titolazione si faccia di fronte ad un estratto di *B. typhi*, certo assai meno ricco d'albumina che non il siero.

Il comportamento di fronte al calore non è uguale per tutte le pseudoprecipitine. L'azione precipitante delle fitoalbumine è distrutta già a 70° C. (VILENKO, cit. in KRITSCHEWSKY): per contro quella del *Cotyledon* talora non è interamente distrutta neppure dal riscaldamento per un'ora a 144° C.; anche per questa pianta vi sono talvolta dati contradditori, potendosi avere notevoli indebolimenti, e talora distruzione completa del potere precipitante, già dopo un'ora a 100° C. (in autoclave).

La pseudoprecipitina del *Cotyledon* non è danneggiata dall'azione della pepsina e della tripsina; ed anche riguardo al comportamento di fronte alla conservazione in termostato ed in ghiacciaia, alla dialisi, all'assorbimento da parte dell'antigeno, alla filtrazione per candela ha comportamento analogo alla rispettiva pseudoagglutinina (v. pag. 155).

Perciò, malgrado la diversa termostabilità, il KRITSCHEWSKY ritiene che i due pseudoanticorpi del *Cotyledon* debbano verosimilmente ritenersi per identici, avendosi cioè una sostanza ad un tempo precipitante ed agglutinante. Contro una generalizzazione di questo concetto stanno però le osservazioni del VIGLIANO (v. tab. 5), il quale constatò che, mentre tutte le piante da lui trovate precipitanti danno anche l'agglutinazione dell'uno e dell'altro dei batteri sperimentati, vi sono per contro parecchie piante che danno agglutinazione ma non precipitano il siero di cavallo (*Armillaria mellea*, cavolo, spinacio, scorzonera, carota, *Stachis*).

TABELLA 7. — PROTOCOLLO DELLE ESPERIENZE

N°.	Data	Numero delle foglie Natura dell'estratto	Peso in gr.	H_2O in cmc.	Preparazione estratto
79	4/2/24	—	—	—	
		Medesimo estratto ma scaldato a 100°. .	—	—	
		Medesimo estratto centrifugato su amianto	—	—	
		Medesimo estratto centrifugato su amianto e scaldato a 100°	—	—	
80	7/2/24	Succo lauroceraso semplice	—	—	
		Lo stesso	—	—	
		» »	—	—	
		» »	—	—	
		» »	—	—	
		» »	—	—	
		» »	—	—	
		» »	—	—	
		» »	—	—	
		» »	—	—	
		» »	—	—	
81	8/2/24	4 foglie, grosse, spesse e scure	16,950	35	Solita
		Le stesse			»
		» »			»
82	8/2/24	4 foglie più piccole meno verdi delle precedenti	11,750	35	» »
		Le stesse			»
		» »			»
83	8/2/24	4 foglie piccole, sottili, verde chiaro. .	5,770	25	»
		Le stesse			»
		» »			»
84	13/2/23	3 foglie	13,950	45	»
		Le stesse			»
		» »			»
85	13/2/23	4 foglie	9,650	35	»
		Le stesse			»
		» »			»

LLA PSEUDOAGGLUTININA DEL LAUROCERASO.

Colore	Temperatura estratto	Diagnost.	p. H.	Durata	Risultati	*Osservazioni*
	Ordinaria	Tifo	5,3		Aggl.	
	100°	»	5,3		Nulla	
	Ordinaria	»	8,4		»	
	100°	»	8,4		»	
	Ordinaria	»		45′	Aggl.	
	30°	»		1 ora	»	
	35°	»		»	»	
	40°	»		»	»	
	45°	»		»	»	
	50°	»		»	»	
	55°	»		»	»	
	60°	»		»	»	
	70°	»		»	»	
	80°	»		»	»	
	100°	»		»	»	
	Ordinaria	»	4,2	ore 1 ½	»	
	85° b. m. per 5′	»	4,2	»	»	
	100° b. m. per 5′	»	4,2	»	»	
	Ordinaria	»	4,4	»	»	
	85° b. m. per 5′	»	4,4	»	»	
	100° b. m. per 5′	»	4,4	»	»	
	Ordinaria	»	4,9	»	»	Agglutinaz. granul., meno evidente dei 2 casi precedenti.
	85° b. m. per 5′	»	4,9	»	«	Idem.
	100° b. m. per 5′	»	4,9	»	»	Idem.
	Ordinaria	»	4,6	30′	Nulla	Dopo un'ora e dopo 24 ore, lo stesso.
	100° b. m. per 5′	»		»	»	Idem.
	100° Eb. dir. per 2′	»		»	»	Idem.
	Ordinaria	»	4,6	»	Aggl.	Idem.
	100° b. m. per 5′	»		»	» (gran.)	Idem.
	100° Eb. dir. per 2′	»	4,6	»	Nulla	Dopo 1 ora, lo stesso; d. 24 ore, agglut.

(Seguito

Nº.	Data	Numero delle foglie Natura dell'estratto	Peso in gr.	H_2O in cmc.	Preparazione estratto
86	21/2/24	2 foglie grandi verde scuro..........	7,600	50	Solita
87	21/2/24	2 foglie grandi verde scuro..........	8,200	50	»
88	21/2/24	4 foglie piccole meno verdi	6,100	30	»
89	21/2/24	4 foglie piccole meno verdi	7,000	30	»
90	25/2/24	4 foglie piccole	8,600	20	»
		Le stesse		30	»
		» »		40	»
		» »		45	»
		» »		60	»
91	25/2/24	3 foglie grandi	8,800	20	»
		Le stesse		30	»
		» »		40	»
		» »		45	»
		» »		60	»
92	27/2/24	4 foglie piccole scure	7,300	20	»
		Le stesse		30	»
		» »		40	»
		» »		60	»
		» »		30	pass. su filtro carta
93	27/2/24	2 foglie verde scuro	7,500	20	Solita
		Le stesse		30	»
		» »		40	»
		» »		60	»
		» »		30	pass. su filtro di carta
94	29/2/24	5 foglie medie clorotiche	17,550	60	Solita
		Le stesse		»	filtrato p. candela Chamberl.
		» »		»	Solita
		» »		»	»
		» »		»	»
95	29/2/24	5 foglie medie verde intenso	18,000	60	»
		Le stesse	»	»	filtrato per candela
		» »	»	»	Solita
		» »	»	»	»
		» »	»	»	»

Tabella 7).

Colore	Temperatura estratto	Diagnost.	p. H.	Durata	Risultati	*Osservazioni*
Paglier. chiaro	Normale	Tifo	6,2	3 ore	Nulla	
»	»	»	6,4	»	»	
Giallo chiaro	»	»	4,2	»	Aggl.	
Paglier. chiariss.	»	»	5,6	»	»	
Chiaro incolore	»	»		30′	»	
»	»	»	4,4	50′	»	(Debole).
»	»	»		»	»	(Deboliss.).
»	»	»		5 ore	»	
»	»	»		»	»	
Marrone chiaro	»	»		»	»	(Lieve).
»	»	»	5,6	»	»	(Lieve).
»	»	»		»	»	(Deboliss.).
»	»	»		ore 6½	»	(Lieve).
»	»	»		7 ore	»	(Lieve).
Paglier. chiariss.	Ordinaria	»		2 ore	»	
»	»	»	4,3	»	»	
»	»	»		»	»	
»	»	»		»	»	
»	»	»		»	»	
Verde chiaro	»	»		1 ora	»	
»	»	»	4,2	2 ore	»	
»	»	»		»	»	
»	»	»		6 ore	Nulla	
»	»	»		1 ora	Aggl.	
Marrone chiaro	»	»	5,2	30′	»	(Debole).
				45′	»	(Forte).
»	»	»	6,7	24 ore	Nulla	
»	100° b. m. per 15′	»		2 ore	Aggl.	
»	100° b. m. per 30′	»		»	»	
»	100° b. m. p. 1 ora	»		»	»	
Paglier. chiaro	Ordinaria	»	4,8	30′	»	(Debole).
				45′	»	(Forte).
»	»	»	6,6	24 ore	Aggl.	
»	100° b.m. per 15′	»		2 ore	»	
»	100° b. m. per 30′	»		»	»	
»	100° b. m. p. 1 ora	»		»	»	

TABELLA 8. — PRECIPITINE E

N. progr.	Tecnica	Materiale inoculato	Precipitazione con		
			Siero cavallo	Siero cavia	Siero uomo
96	III (laurocer.)	Niente	—		
97	II *D* (gelso)	»	—	—	—
98	III *a* (laurocer.)	Siero cavallo (emolitico antimontone)	— subito +++ dopo 24 ore		
99	III *a* (laurocer.)	Siero di cavallo	—		
100	I *C* (gelso)	Siero di cavallo	—		
101	I *D* »	Siero cavallo 10%	—	—	
102	II *D* »	Siero cavallo	—		
103	II *D* »	Siero cavallo	—	—	—
104	I *D* »	Siero cavallo	—	—	—
105	I *D* »	Siero di cavia	—	—	—
106	I *D* »	Siero uomo	—	—	—
107	I *C* »	Sospens. V. cholerae	± ?		
108	I *C* »	Sospens. B. typhi	± ?		

(1) Si considerano come *positive* le prove in cui, facendo la reazione zonale, appare (la completa mancanza di intorbidamento si è osservata solo pel N. 99 più succo di foglia

PSEUDOPRECIPITINE (1)

Sospens. V. cholerae	Sospens. B. typhi	*Osservazioni*
		Controlli: più siero precipitante anticavallo +; più succo foglia di ramo inoculato con siero anticavallo (N. 33 della tabella 3) —.
		Prelievo dopo 5 giorni. Sul liquido del T: biureto + + +; più siero precipitante anticavallo + + +.
		Inalbam. liquid. con siero cavallo, anello e flocculaz. nel liq. con siero cavia; biureto + + +; più siero precipit. anticavallo + + +.
		Inalbam. del liquido con siero di cavallo. Biureto —; più siero precipit. anticavallo +.
		Biureto —; più siero precipit. anticavallo —.
		Inalbam. del liquido con siero cavallo; inalb. e anello nel liq. con siero cavia. Più siero prec. anticavallo + + +.
		Inalbam. liq. con siero cavia e con siero uomo. Biureto positivo.
		Inalbamento del liq. con siero cavia e siero uomo. Biureto positivo.
		Prelievo dopo dieci giorni. Lettura dopo 15h a 37° C. Non si è tenuto conto se l' inalbam. fosse nel liquido o nel siero. Biureto negativo. Sia il N. 107 che il 108, dopo 15 ore a 37° C. intorbidano leggermente tanto il siero precipitante antitifo quanto l'anticolera.

ntorbidamento *nel siero*; negative quelle in cui vi è intorbidamento o precipitazione *nel liquido* amo inoculato con siero precipitante).

TABELLA 9. — PSEUDOANTICORP

N. Progr.	Tecnica	Materiale inoculato	Emolisi con		
			Emazie montone sole	Emaz. montone più ambocettore	Emaz. montone più complemento
109	III (laurocer.)	Niente Non filtr. Filtrato	—	+ — — lenta	+ lenta
110	III *a* (»)	Siero anticolera			
111	III *a* (»)	Siero antimelitense			
112	III *a* (»)	Siero prec. anticavallo			
113	III *a* (»)	Siero cavallo			
114	III *a* (»)	Sospens. V. cholerae			
115	III *a* (»)	Ricina (inattiva)			
116	III *b* (»)	Siero aggl. antitifo			
117	I *C* (gelso)..........	Siero aggl. antitifo	+++		+++
118	I *C* (»)..........	Soluzione fisiologica	—		+
119	I *C* (»)..........	Niente (cioè solo acqua)	—		++
120	II *D* (»)..........	Niente	—		++
121	II linfa del libro (gelso)		—	—	—

I segni da + — — a + + + denotano la crescente intensità dell'emolisi; il segno —

ELLE EMAZIE

Emaz. montone più ambocettore più complemento	*Osservazioni*
+++ rapida	
+++	
+++ dopo 1 ora	Liquido filtrato. Controlli: 1) Emazie più ambocettore più complemento, l'emolisi si completa dopo 1/4 d'ora; 2) Emazie più soluzione fisiologica, non emolizzano spontaneamente.
+++ dopo 1 ora	
+++ dopo 1 ora	
— dopo 1 ora ± dopo 24 ore, agglutinazione leggera	
+++ dopo 1 ora	
— dopo 1 ora ++ con legg. aggl., dopo 24 ore	
+++ dopo 1/4 d'ora	
	Nei due controlli senza liquido, emolisi —
	Controlli: sole emazie —, emazie più complemento +
	Controlli: sole emazie —; emazie più complemento ±
	Controlli: sole emazie —; emazie più complemento +
+ + +	

dica emolisi nulla.

§ 4. – GLI ANTICORPI.

Come ho già detto, la presenza e la diffusione dei pseudoanticorpi nei succhi delle piante rende assai ardua l'opera di chi voglia rispondere con chiarezza alla domanda, se nelle piante si possano produrre anticorpi di natura analoga a quelli zooimmunitari. Un reperto negativo, infatti, lascia adito al dubbio, potendosi pensare anche ad attribuirlo alle deficienze della tecnica, tuttora assai primitiva, di cui disponiamo sia per introdurre gli antigeni nelle piante, sia per estrarre i succhi di queste (vedi Tecnica pag. 191).

Ma d'altro lato, ogni reazione positiva può destare il sospetto di un'azione da pseudoanticorpi. Tanto più che questi ultimi, per la loro saltuarietà e pseudospecificità, possono rimanerci ignoti per tutta una serie d'esperienze, e poi rivelarsi al termine di questa, quando già il nostro pensiero s'era orientato verso l'interpretazione immunitaria dei fenomeni osservati: oppure può anche avvenire che, per esserci accontentati di un gruppo troppo ristretto di prove, lo pseudoanticorpo non abbia avuto occasione di rivelarsi. Tutto ciò deve constringerci ad andare assai cauti sia nel negare, sia — ed ancor più — nell'affermare l'effettiva formazione immunitaria d'anticorpi nelle piante. Ed in questo senso vanno interpretate le conclusioni negative, o quanto meno dubitative, che noi siamo venuti traendo, ed ora dobbiamo riaffermare, da tutto il complesso delle ricerche nostre, e di buona parte delle altrui, in questo campo; ed altresì le riserve che ci sentiamo obbligati a fare anche di fronte al gruppo di fatti osservati dal CAPPELLETTI (v. pag. 175), che è indubbiamente quello che maggiormente sembra deporre per conclusioni positive. Ma debbo avvertire subito che, come il dubbio ora accennato non permette di fare affermazioni decise neppure in senso negativo, così la probabile assenza di anticorpi a tipo zooimmunitario non vale ad escludere la possibilità, almeno teorica, che nei succhi delle piante possano riversarsi altri anticorpi, d'azione ancora ignota per noi.

Poste queste premesse, veniamo ora ad esaminare partitamente i singoli anticorpi.

a) *Agglutinine.* — Non mi consta si sia mai tentata la ricerca d'emoagglutinine in piante inoculate d'emazie: noi comunque non ne abbiamo trovate.

Secondo il Picado, l'iniezione di polline di mais nei cladodi di un'*Opuntia*, provocava la comparsa, nel succo di spremitura di questa, di una pollinoagglutinina che agiva sul polline antigeno e su quello d'altre graminacee, ed era termolabile, ma riattivabile per aggiunta di succo normale; quest'ultimo, per se stesso, non agglutinava i detti pollini. Il succo di cladodi inoculati con polline di giglio, però, agiva più sul polline di *Gladiolus* che su quello di alcune liliacee: il che mi sembra deporre più per i pseudoanticorpi che per un anticorpo specifico ed immunitario. Noi abbiamo ripetute le esperienze del Picado, ma non sappiamo se la specie di *Opuntia* da noi usata fosse la stessa impiegata da lui: comunque i risultati sono stati negativi, tanto col polline di mais, quanto con quello di *Abies pectinata*.

Più numerose sono state le ricerche nei riguardi delle batterioagglutinine.

Lo stesso Picado non ne ha ottenute coll'inoculazione di blastomiceti nei cladodi della detta *Opuntia*. In una serie d'esperienze compiute nel 1920, ho ricercato l'eventuale produzione di batterioagglutinine nei tuberi di patata. A tale scopo anzitutto ho inoculato delle patate, iniettandole sotto la buccia con siringa, di un *Bacillus asterosporus* poco virulento, ed in dosi varie ma sempre basse. Dopo nove giorni uno di questi tuberi — in cui si era formato un focolaio di decomposizione, privo però del germe antigeno, — ed un tubero di controllo non inoculato, furono spremuti alla pressa idraulica, ed il succo venne subito infialettato per impedirgli di annerire. Questo succo fu allora cimentato con cultura in brodo dell'*asterosporus* antigeno, alle diluizioni: 1:2 — 1 : 10 — 1 : 50; ma dopo due ore a 37° l'agglutinazione macroscopica era ovunque interamente nulla, e tale era pure quella in goccia pendente alla diluizione 1 : 2.

In seguito inoculai, con pipetta poi lasciata *in situ*, un'altra patata con *B. aterrimus* che in prove preliminari si era dimostrato virulento per questo tubero: la previa disinfezione locale, per questa e per le altre esperienze, si fece con la fiamma della soffieria. Ottenuto in sette giorni l'attecchimento, con formazione di un focolaio tipicamente cancrenoso da cui reisolai il bacillo, anche qui feci — comparativamente ad un tubero sano — l'agglutinazione macroscopica, col sugo di spremitura alla pressa raccolto in provette contenenti olio di vaselina, e ponendo tale olio anche sulle provettine di agglutinazione. Ma questa riuscì interamente negativa alle diluizioni 1 : 2 ed 1 : 10, anche dopo 21 ore a 37° C. Apposito controllo aveva dimostrato che l'olio di vaselina non ostacola l'agglutinazione da immunsiero. Ripetei allora la prova su un gruppo di patate, con diluzioni scalari di agarpatina dello stesso *B. aterrimus*, medicando con maggior cura la ferita d'infezione (da cui dopo due giorni avevo estratto la pipetta) con un tappo di vaselina e con la sovrapposizione di bambagia, ingommata tutt'intorno alla parte bruciacchiata. Altre due patate, per controllo, furono in pari tempo e con uguale tecnica inoculate con acqua sterile. Dopo 15 giorni, vi erano — cosa curiosa — focolai di cancrena solo nei tuberi inoculati con le sospensioni batteriche più diluite; dei controlli, uno si era casualmente infettato, l'altro era integro. Procedutosi, con la stessa tecnica dell'esperienza precedente alle prove di agglutinazione, questa riuscì interamente negativa, anche dopo due ore a 37° C. ed altre 24 ore all'ambiente. Noterò di passaggio che le patate infette diedero sempre, alla pressa, una quantità di succo notevolmente maggiore che quelle sane.

Pensando che la mancata produzione di agglutinine potesse eventualmente essere legata all'insorgenza dell'infezione in queste esperienze con germi patogeni e virulenti, volli allora sperimentare un microrganismo non patogeno per la patata; essendo notorio che, negli animali, si possono ottenere sieri agglutinanti, anche ad altissimo titolo, rispetto a microbi completamente privi di potere patogeno per l'animale sieroproduttore. Ricorsi per ciò ad un ceppo di *Bacillus lactis albus*, che ovvie prove preliminari mi avevano dimostrato del tutto avirulento per la patata, e che, d'altro lato, nel coniglio (pel quale è pure innocuo) si era dimostrato buon agglutinogeno (agglutinazione a 1 : 5000). Con dosi crescenti di culture in agar di 24 ore — 1/5 di patina, 1/2 patina, 1 patina per ogni tubero — si inocularono settimanalmente quattro grosse patate novelle, per bruciatura ed excisione sterile di un tassello che si amputava dalla punta, versando la cultura nella cavità, rimettendo a posto (sempre sterilmente) il pezzo exciso e medicando al solito con cotone ingommato all'intorno. Nove giorni dopo l'ultima inoculazione, una di queste patate fu spremuta *more solito* (nel tagliarla si vide che le ferite erano bene cicatrizzate): ed il succo diede, con l'antigeno, agglutinazione interamente negativa, dopo 1 ora e 1/4 a 37° C. ed anche dopo altri tre giorni in ghiacciaia. Identici risultati diede, due mesi e 22 giorni dopo l'ultima inoculazione, un'altra di queste patate, le cui ferite si erano pure rivestite di un robusto strato di subero.

L'esito di queste esperienze è stato, dunque, nettamente negativo: così come lo fu quello d'analoghe esperienze fatte dal KOŘINEK, col latice di *Euphorbia Erythraea* e di *Euphorbia aphylla* inoculate con *B. coli*, e col succo di spremitura di tumori e di radici sane di *Beta vulgaris* infettata con *B. tumefaciens;* da DOUSSAIN, con succo di pressione di bulbi di cipolle ripetutamente inoculate con brodoculture dei paratifici *A* e *B;* da SARDIÑA con succo di pressione di cladodi di *Opuntia Ficus indica*, *Opuntia Lindheimeri*, *Opuntia sp.*, di pianta intera di *Faba*, di *Lycopersicum esculentum*, *Cucurbita Pepo*, tuberi di *Solanum tuberosum*, inoculati con culture vive o uccise di tre « batterî della malattia del piede » denominati B. 34, B. 43, e B.C. 6, di *B. tumefaciens* e di *B. Campestre*. L'effettiva specificità del potere battericida e batterioagglutinante degli estratti di rami di olivo affetti da *tubercolosi* rispetto al *Bacterium oleae*, potere che mancava invece ai rami sani, è stata posta in dubbio da E. SMITH.

Noi abbiamo ricercata l'eventuale presenza di batterioagglutinine dopo assorbimento dei rispettivi antigeni, tanto nell'estratto di foglie di lauroceraso quanto nelle due linfe del gelso, di fronte a culture uccise di *B. typhi* e *V. cholerae as.* ed a *B. aterrimus* (v. tab. 10).

I risultati della foglia e della linfa del libro sono evidentemente « inquinati » dalla presenza di pseudo agglutinine; ma quelli della linfa del legno sono tutti completamente negativi. Con risultati egualmente negativi, ARNAUDI ha ricercato le agglutinine antitumefaciens sia nel succo di spremitura di tumori, sia nella linfa del legno, di geranî portanti tumori per infezione col medesimo *B. tumefaciens:* ciò che fu poi riconfermato anche da A. I. RIKER.

E negativi sono pure i risultati delle prove fatte in collaborazione col FRANÇA, nelle quali s'era tentata una via a cui certo non

TABELLA 10. —

N. Progres.	Tecnica	Materiale inoculato	Aggluti	
			B. typhi	B. coli
122	III *a* (lauroceraso)	Tifo diagnostico I. S. M. (1)		
	non filtrato		+++	
	filtrato per amianto		—	
123	III *a* (lauroceraso)	Colera diagnostico I. S. M. (1)	—	
124	I *B''* (lauroceraso su gelso)	Tifo (2)	— (A e D)(3)	— (D)
125	III (gelso)	»	— (D)	
126	II *C* (gelso)	»	— (D)	
127	II *C* (gelso)	»	— (D)	
128	I *D* (gelso)	»	— (D)	
129	II (gel.) - Linfa del libro da p.te integre.	»	+++ (D)	
130	Idem	»	+++ (D)	
131	»	»	— (D)	
132	»	»	— (D)	
133	»	»	— (D)	
134	II (g.) Linfa lib. del ramo reciso, n. 127.	»	— (D)	
135	I *B''* (lauroceraso su gelso)	Coli	— (D)	— (A e D)
136	II *C* (gelso)	Colera		
137	II *C* (gelso)	»		
138	I *D* (gelso)	»		
139	II (gel.) Linfa del libro da p.te integre.	»	+++ (D)	
140	Idem	»		
141	»	»		
142	II (gelso) - Linfa libro da ramo reciso del N. 137.	»		
143	II (gelso) Linfa libro da ramo	B. aterrimus vivo, sosp. in acqua sterile		
144	II (gelso) Linfa libro da foglia	Idem.		

(1) I *diagnostici* I. S. M. sono sospensioni lattosate e fenicate di microrganismi uccisi pe

(2) Dove è detto *Tifo*, *Colera*, *Coli*, s'intende parlare di sospensioni acquose uccise per caut il nome convenzionale di *antigeni*.

(3) A = *Antigeno*; D = *Diagnostico* (vedine il significato alle note 1 e 2).

GGLUTININE.

azione di		Osservazioni
V. cholerae	B. aterrimus	
—		Con sieri precipitanti antitifo e anticolera, —
—		
—		Con sieri precipitanti antitifo e anticolera, —
— (D)		Ripetuto il prelievo dopo 14 giorni con egual risultato. Lettura dopo 16 ore a 37° C.
— (D)		Prelievo dopo 10 giorni.
		Prelievo dopo 10 giorni.
		Si ripete una volta, con lo stesso esito.
		Prelievo dopo 10 giorni. Lettura dopo 3 ore a 37° C.
		Idem, idem.
+++ (D)		Prelievo dopo 18 giorni.
+++ (D)		Prelievo dopo 19 giorni.
		Prelievo dopo 7 giorni.
— (D)		
— (D)		Ripetuto dopo 14 g. con lo stesso esito. Lettura dopo 16 ore a 37° C.
— (D)		Prelievo dopo 10 giorni.
— (D)		Si ripete una volta, con lo stesso esito.
— (D)		
+++ (D)		Prelievo dopo 8 giorni.
+++ (D)		Prelievo dopo 9 giorni.
± (D)		Prelievo dopo 7 giorni.
— (D)		
	+++ (A)	Prelievo dopo 6 giorni.
	+++ (A)	Idem.

auto riscaldamento: essi sono usati per le reazioni sierodiagnostiche d'agglutinazione (Widal, ecc.).
riscaldamento senza aggiunta di fenolo, nè di lattosio, nè d'altro. Diamo a queste sospensioni

poteva rimproverarsi — come, non ingiustamente, fa il Kořinek alle inoculazioni con siringa, che hanno molte probabilità di non raggiungere che gli spazi intercellulari — di non condurre l'antigeno ad intimo contatto coi tessuti della pianta. Il França, infatti — in istretta collaborazione epistolare con me — nutriva con *B. typhi* le foglie di un'interessante pianta carnivora della penisola iberica, il *Drosophyllum lusitanicum*, già da lui particolarmente studiato. Questa pianta (v. fig. 30), opera, senza intervento di microrganismi (che è invece indispensabile ad altre carnivore), la digestione dei materiali proteici — in natura, costituiti da piccoli insetti — che vengono a contatto colle glandole di cui la pianta è assai ricca; il materiale digerito è poi assorbito da altre cellule delle glandole stesse, e così è condotto nelle cellule della foglia e nei vasi della linfa elaborata.

Dal materiale digerito si origina poi un pigmento nero, che viene man mano riempiendo ed occludendo i vasi: le foglie si distaccano dopo un certo numero di pasti, muoiono e cadono.

Nutrite, dunque, di tali piante con *B. typhi*, si cimentò una sospensione di tale antigeno di fronte ad estratti ottenuti tritando da un lato le glandole, dall'altro il rimanente, delle foglie così alimentate: ma il risultato fu completamente negativo.

E veniamo così alla più delicata delle questioni riguardanti la presenza, o meno, di agglutinine immunitarie nei vegetali; quella, cioè, dei tubercoli radicali delle leguminose. Il quadro d'insieme del comportamento delle leguminose tubercolizzate è questo: appena avvenuta l'infezione e mentre il tubercolo si sviluppa, lo sviluppo vegetativo della pianta si rallenta; ma all'iniziarsi della fioritura comincia una rapida involuzione del tubercolo che finisce poi con una sua parziale distruzione. Lo svuotamento del tubercolo è in istretto collegamento colla maturazione dei frutti (da Cappelletti).

Partendo dal fatto — constatato dallo Zinser — che le parti aeree delle leguminose non si possono infettare coi batteri dei tubercoli (1), il Kořinek ha cimentato delle sospensioni di tubercoli da un lato, delle culture di bacteri radicicoli dall'altro, di fronte al succo di pressione della parte aerea delle rispettive leguminose; ma l'agglutinazione è sempre mancata. Inoltre supponendo che agglutinine potessero esservi nelle cellule non invase dal tubercolo, egli ha trattato in egual maniera (triturazione con soluzione fisiologica clorurosodica), dei tubercoli, e nell'emulsione così ottenuta non ha visto verificarsi l'agglutinazione.

---

(1) Che tale fatto possa mancare è dimostrato da un'esperienza del Cappelletti, che, infettando il fusto di pisello con un *B. radicicola* isolato da tubercoli di pisello, ottenne un'ipertrofia, con ingrandimento del nucleo, nelle cellule midollari, provocante lunghe fessure nel fusto; i batteri attecchivano e si moltiplicavano, ma senza assumere aspetto di bacteroidi.

L'A. riferisce un'osservazione, fino ad allora inedita, del NEMEČ, secondo la quale i *B. radicicola* contenuti nelle cellule dei tubercoli di *Pisum*, ordinariamente distribuiti in modo molto regolare, nel momento in cui la pianta sta per digerirli formano dei gruppi, che all'aspetto ricordano molto quelli dei batteri agglutinati.

Di fronte a questi risultati, sta tutta l'opera svolta dal 1924 al 1928 dal CAPPELLETTI.

Riporto anzitutto, integralmente, le conclusioni del lavoro definitivo (1928) di quest'ultimo A. Conclusioni di cui verrò poi discutendo le basi sperimentali: non certo per infirmarle, chè tutto il lavoro appare condotto con solida concezione d'insieme, minuziosa cura dei particolari, acuta ideazione della tecnica, ed assoluta oggettività e chiarezza nell'esposizione dei fatti; ma perchè non mi persuade ancora interamente l'interpretazione che l'A. ammette per alcuni di questi ultimi. Ecco, dunque, le conclusioni del CAPPELLETTI.

« Esistono fra le leguminose alcune specie che danno agglutinoreazioni su germi diversi con immunsucchi estratti dai tubercoli radicali opportunamente preparati.

Le agglutinine dei tubercoli sono termolabili (1/2 ora a 78°—80°).

Le specie che presentano questo comportamento, che denominai tipo *Lathyrus*, posseggono immunsucchi attivi soltanto in determinati periodi di vita della pianta, e cioè in corrispondenza dell'antesi fino all'inizio della fruttificazione. I tubercoli di uno stesso individuo non sono però mai tutti ad un identico periodo di sviluppo, e ciò in relazione con i periodi successivi di infezione nei diversi punti della radice. Questo fatto prova che l'infezione, e che gli anticorpi prodotti dai processi reattivi, sono strettamente localizzati ai tessuti infetti. Dalle osservazioni citologiche risulta che è solo la cellula infetta che presenta reazione evidente, mentre le cellule intermediarie nel parenchima del midollo si dimostrano indifferenti.

Relativamente alla specificità della reazione, desunta dalla azione del succo estratto da tubercoli di una specie, su stipiti isolati della stessa specie o da altre specie di Leguminose, il comportamento è vario. Tra i fattori di questa variabilità deve essere considerata la provenienza dello stipite, e quella sicuramente constatata della pluralità dei germi che infettano i tubercoli: infatti nello stesso tubercolo possono trovarsi associati germi diversi, i quali in qualche caso si riescono ad isolare e presentano caratteristiche morfologiche e culturali differenti. Sulla pluralità di germi che infettano le leguminose, esiste ormai una ricca letteratura, e pare dimostrato (come lo confermano anche alcune mie ricerche), che la presenza di due o più germi nello stesso tubercolo sia favorevole specialmente nell'inizio della simbiosi, se non per l'accrescimento del tubercolo.

Il controllo della varia specificità delle infezioni microbiche nelle Leguminose venne fondato su ricerche varie: *a*) con agglutino-reazione di germi con succhi tratti da tubercoli; *b*) con agglutino-reazione di germi con sieri di animali immunizzati con uno stipite di Leguminosa; *c*) con la precipito-reazione con gli stessi sieri di animali immuni; *d*) con culture agglutinate in presenza di immuncorpi contenuti sia nei tubercoli (fitoagglutinine), sia negli immunsieri su ricordati (zooagglutinine).

Mentre per alcune Leguminose è cosa facile dimostrare la presenza di anticorpi, per altre invece non si riesce a provarne l'esistenza. Ciò si verifica sopratutto in *Phaseolus vulgaris*.

Il comportamento delle altre specie da me studiate si può ascrivere a questi due tipi: *Lathyrus, Phaseolus.*

Le indagini citologiche dànno la spiegazione delle differenti caratteristiche umorali sopra rilevate.

Nelle specie del primo gruppo (tipo *Lathyrus*), si osserva che il nucleo reagisce all'infezione, si ipertrofizza e resta nella cellula in istato di attività finchè questa si distrugge: un ampio vacuolo è sempre presente e contro ad esso si appoggia il nucleo. I germi subiscono delle trasformazioni: bacillari nei primi periodi di infezione, attraversano una fase prebacteroide nella quale si ipertrofizzano e finalmente diventano tipici bacteroidi con le note forme ad X, Y od arborescenti. All'estremità delle branche i germi presentano delle masse cromofile, riferibili a masse nucleari.

Nelle specie del secondo gruppo (tipo *Phaseolus*), il nucleo si altera rapidamente, non si ipertrofizza e successivamente, va a morte. Manca il vacuolo centrale nel plasma, ed i germi, senza subire trasformazioni considerevoli, conservano invariata la forma bacillare riempiendo tutta la cellula. Le cellule intermediarie sono scarse e possono in qualche specie anche mancare.

Si può dunque contrapporre al quadro immunologico, un quadro morfologico, il quale spiega come le specie che non dànno agglutinazioni, presentino tessuti che non hanno lottato contro l'infezione, ma l'hanno invece subita passivamente.

Solo se i nuclei delle cellule dell'ospite hanno reagito ipertrofizzandosi e rimanendo lungamente attivi, si possono avere reazioni umorali reperibili *in vitro* (tipo *Lathyrus*).

Uno studio di varie specie di Leguminose di provenienza americana, per controllare se sulla mancata produzione della forma a bacteroide abbia influenza la patria di origine delle specie stesse, ha dimostrato per *Phaseolus* che le reazioni cellulari e le forme dei germi osservate nei nostri climi, sono identiche a quelle osservate sui materiali di provenienza americana.

Cade dunque l'ipotesi che la mancata forma a bacteroide sia legata ad un incompleto adattamento dei germi all'ospite ed è avvalorata l'altra che considera solo il diverso grado di reazione cellulare, variabile da specie a specie nell'ambito perfino della stessa tribù.

La forma a bacteroide considerata nei suoi rapporti citologico immunologici, poichè è solo presente in quelle specie a forte reazione nucleare che posseggono anticorpi, va considerata non quale una forma degenerata, ma bensì come una forma reattiva alle azioni multiple determinate dall'ospite (agglutinine).

Nella fase ultima di lotta nelle cellule dei tubercoli, si osserva che tanto il nucleo e il plasma dell'ospite, quanto i germi, si distruggono. È una simbiosi nella quale i due organismi soccombono insieme dopo aver lottato con diversa intensità a seconda della specie considerata. Non esiste una vera fagocitosi del tipo descritto da N. Bernard e Magrou nelle Orchidee, poichè nella lotta che si svolge con modalità diversa fra cellula ospite e germi, soccombono tutti e due i simbionti; e la Leguminosa ne trae vantaggio nel senso che le cellule della scorza restando vitali, possono operare il riassorbimento dei materiali del parenchima bacterico caduto in autolisi.

Gli enzimi proteolitici sono presenti nei tubercoli di molte specie in relazione con l'età del tubercolo. Hanno dato intense reazioni positive: *Pisum sativum, Lupinus albus, Lathyrus odoratus, Robinia pseudacacia, Phaseolus vulgaris, Astragalus podocarpus,* specialmente nella fase di più intenso riassorbimento. Per *Phaseolus,* solo i tubercoli molto vecchi, quasi spappolati, reagiscono positivamente.

Da tutta la serie di esperienze su ricordate, risulta nettamente il parallelismo fra il comportamento immunologico e morfologico nei tubercoli esaminati. Infatti solamente se la pianta reagisce contro l'infezione con una certa intensità si possono produrre anticorpi; non se ne producono nel caso contrario, quando i germi crescono a guisa di saprofiti nell'interno delle cellule. Solo con una precisa conoscenza morfologica fu possibile rendersi ragione dei fenomeni immunitari, e questi due ordini di ricerche (immunitarie e morfologiche) valsero di reciproco controllo per la mutua intelligenza dei fatti. I tubercoli radicali sono assai diversi nelle differenti specie, perchè diversa è in essi la reazione contro l'ospite (confronta le analogie con le Orchidee); e senza dubbio alla scelta delle piante non adattate, si può imputare la causa di insuccesso di qualche autore in ricerche di quest'ordine ».

Nulla ho da eccepire sulle conclusioni riguardanti la citologia dei tubercoli e dei *B. radicicola,* argomento del quale, del resto, non ho pratica personale: né sono alieno dal ritenere — salvo ulteriori conferme, o meno, dall'estensione dello studio ad un maggior numero di specie di leguminose — che veramente la trasformazione in batteroidi rappresenti una reazione del germe contro i poteri difensivi della pianta ospitante. Ma il problema che devo porre è questo: le agglutinazioni *in vitro* ottenute dall'A. per azione del succo di spremitura dei tubercoli su culture di vari ceppi di *radicicola,* sono dovute a vere agglutinine, od a pseudoagglutinine? Che argomenti molto suggestivi militino a favore della prima ipotesi accettata dall'A., è innegabile; il fatto che sia agglutinante solo il succo di spremitura dei tubercoli e non quello della radice priva o privata di questi, e delle altre parti della pianta; la constatazione istologica diretta di una reazione cellulare nel tubercolo; la coincidenza della comparsa del potere agglutinante *in vitro* colla fioritura della pianta, che corrisponde all'inizio del riassorbimento dei tubercoli; il fatto, notato da DANGEARD e riportato dall'A. che nei tubercoli di *Trifolium pratense* contenenti larghi spazi intercellulari, i germi che ivi si sviluppano abbondantemente hanno tutti forma a bastoncino e non a bacteroidi, sì da far pensare a un'evidente analogia degli anticorpi del tubercolo con gli anticorpi sessili degli animali (vedi pag. 15), che abbiamo visto essere probabilmente estraibili con procedimento poco dissimile dalla spremitura al torchio, impiegata dall'A.; il parallelismo fra presenza o mancanza dell'agglutinazione *in vitro*, da un lato, e della duplice reazione, nucleare della leguminosa e morfologica nel germe, dall'altra, di cui non è chi non veda l'analogia coi fatti d'immunità da ipersensibilità già descritti per gli animali (vedi pag. 19), e per le piante (pag. 72): tutto ciò fa indubbiamente pensare, che la sostanza che agglutina *in vitro* sia effettivamente un prodotto di reazione della pianta ospitante, ed abbia realmente un'importanza nel mantenere a favore di quest'ultima l'equilibrio della simbiosi.

Ma d'altra parte, ciò non basta ancora — e l'A., del resto, se ne è avveduto — a permettere una recisa affermazione dell'identità di natura fra la sostanza agglutinante dei tubercoli e le agglutinine zooimmunitarie, identità contro la quale sembra deporre la mancanza di specificità del potere agglutinante. Questa mancanza è posta in rilievo dall'A. stesso, che fa notare come da molte delle sue esperienze di agglutinazione *in vitro* risulti una serie di fatti che sembrano in evidente discordanza fra loro, e che appunto si riferiscono all'apparente aspecificità delle agglutinazioni. « Non appare molto chiara » dice testualmente l'A. « la questione della specificità della reazione, « poichè in molti saggi (1, 3, 4, 5, 7), ottenni a lato di reazioni positive « su germi specifici, altre negative su germi pure specifici. Così pure « ottenni delle reazioni positive su germi non specifici, cioè isolati « da tubercoli di piante diverse da quelle dalle quali estrassi il succo ».

E per vero, di controlli con germi estranei al gruppo di *B. radicicola* se ne parla soltanto nel primo lavoro dell'A. (1924), in cui è detto: « Germi banali, isolati dal suolo, dall'acqua di un canale, e « coltivati in terreni uguali a quelli che mi servirono per le altre ri- « cerche, o non si sono agglutinati, *o diedero agglutinazioni non solo*

« *con succhi dei tubercoli, ma anche non meno intensamente coi succhi* « *di radici e di foglie di pisello e con succhi di foglie di Arundo Donax,* « usati come controllo, come quelli provenienti da una pianta priva « di tannino, e da cui erano quindi meno da temere fenomeni di coa« gulazione ». Il che significa evidentemente che quei germi banali erano agglutinabili anche ad opera delle pseudoagglutinine, provenienti sia da leguminose (nelle quali sono state trovate anche da VIGLIANO, vedi tab. n. 5), sia da altre piante, e che possono esservi anche pseudoagglutinine prive di tannini.

Nelle ricerche ulteriori dell'A. tutti i germi impiegati appartengono invece al gruppo dei *B. radicicola;* le prove consistono infatti nel cimentare il succo dei tubercoli naturali di un certo numero di specie di leguminose, di fronte a sospensioni di culture, vive o convenientemente uccise, di radicicoli isolati sia dalla stessa specie, sia da altre leguminose. E qui, oltre all'accennata divisione delle leguminose in specie che danno agglutinazioni e specie che non ne danno, abbiamo dei fatti che deporrebbero contro la specificità della sostanza agglutinante, se noi potessimo essere certi: 1º che la specie (o varietà) di batterio che provoca la tubercolizzazione di ciascuna specie di leguminosa sia sempre unica ed effettivamente fissa; 2º che la specificità dell'agglutinina così formatasi sia di *specie* (o varietà), e non puramente *di ceppo.*

Ma il primo fatto è posto in dubbio dall'A., che ritiene che spesso i tubercoli di una stessa pianta siano dati da più batteri, e che anzi tale associazione sia probabilmente necessaria. A sostegno di ciò l'A. cita il fatto, che a lui non è riuscito di tubercolizzare leguminose coltivate sterilmente, infettandole con culture pure dei suoi germi: ma ciò potrebbe anche doversi ad una semplice svirulentazione di detti germi; ed a favore di questa spiegazione sta anche il fatto che con uno di questi — da lui chiamato col nome convenzionale di *Pisello col.* 11 *mg.* — egli ha ottenuto, nel pisello coltivato sterilmente, la formazione di piccoli tubercoli accompagnata da spaccatura longitudinale della radice. Quanto alla specificità delle agglutinine, sta di fatto che il siero di un coniglio inoculato con stipite « Pisello col. 11 m. » agglutinava l'antigeno fortemente fino a 1 : 150 e debolmente fino a 1 : 1000; uno stipite « Pisello col. 11 gr. » (proveniente dallo stesso tubercolo da cui si era isolato l'antigeno, ma diverso da questo per qualche carattere) fortemente fino a 1: 150 (le ulteriori diluizioni non furono sperimentate); da un altro stipite « Pisello vecchio col. 16 » fortemente ad 1: 50, e debolmente a 1: 100 ed 1: 150. Degli altri stipiti da pisello, due erano forti a 1: 50 e dubbi a 1: 100 ed 1: 150, uno era dubbio alle tre dette diluizioni, e quattro erano interamente negativi. Per contro, gli stipiti da fagiuolo, *Latyrus* ed uno da *Medicago* erano tutti negativi, mentre un altro da *Medicago* era positivo a 1: 20 e dubbio a 1: 50 ed 1: 150. Risultati analoghi si ebbero per le precipitine. Tutto ciò potrebbe derivare da differenze profonde fra i germi tubercoligeni agenti su una stessa specie di leguminosa; ma potrebbe anche essere, invece, una manifestazione del fatto già noto (VENTURELLI), che spesso i germi non patogeni danno immunsieri dotati esclusivamente, o quasi, di specificità di *ceppo* pel proprio antigene.

Le questioni che ci siamo poste per vedere se si potesse fin d'ora dare per dimostrata l'aspecificità della sostanza agglutinante dei tubercoli restano per ciò non risolte: e tale stato di dubbio ci impedisce sia di affermare, sia di negare tale aspecificità.

L'A. ha, del resto, ben compreso che il problema non poteva risolversi che per una via: ottenere i tubercoli con culture pure di germi e su piante coltivate sterilmente, e poi cimentarne il succo rispetto agli antigeni e, per controllo, ad altri stipiti (ed io aggiungerò, anche a microrganismi di altra specie). Ma poichè, come ho detto, ciò non gli è riuscito, la questione rimane aperta: *può darsi* cioè, che la sua interpretazione favorevole alla specificità sia giusta, ma può darsi anche il contrario. E neppure possiamo ritenere sufficienti le altre ragioni addotte od adombrate dall'A. per ascrivere senz'altro la sostanza agglutinante ai « veri anticorpi ».

Non la termolabilità (65°-70° per mezz'ora) perchè abbiamo visto come vi siano pseudoanticorpi termolabili, come le pseudoprecipitine delle fitoalbumine che si distruggono già a 70° C. (vedi pag. 159) e le sostanze battericide ed agglutinanti delle piante studiate dal WAGNER (vedi pag. 52) che non resistono per due ore a 45° C. nè per 15 minuti a 60° C. Non l'elevata diluizione a cui agisce (fino a 1 : 240), perchè nelle tabelle del lavoro del KRITSCHEWSKY troviamo spesso nel succo di *Cotyledon Sheideckeri* dei titoli di 1 : 200, 1 : 300 e talvolta fino a 1 : 400, rispetto ai germi del tifo e del colera. Non l'assenza dei tannini, già dimostrata insufficiente dalle citate prove di controllo dell'A. stesso col succo di *Arundo Donax*. Non la possibilità di fissare la sostanza agglutinante sui germi agglutinati, analogamente a quanto si fa nella prova del CASTELLANI, perchè abbiamo visto che altrettanto avviene per le pseudoagglutinine del *Cotyledon* (v. pag. 155).

Restano le esperienze di « agglutinazione in *statu nascendi* » per coltivazione dei radicicoli in succo di tubercoli filtrato per candela, puro o diluito con soluzione di saccarosio e mannite; mezzo nel quale però non di rado parecchi stipiti non davano sviluppo.

Due di esse sono fatte con tubercoli di pisello; una ha dato risultato positivo per tre stipiti da pisello e negativo (sviluppo senza agglutinazione) per germi di *Lathyrus odoratus* e *Lupinus albus*, mentre l'altra è stata nettamente positiva per cinque stipiti da pisello, negativa per un sesto (che è uno di quelli che sono stati negativi anche al siero di coniglio), ma positiva sebbene in modo tardivo e debole o dubbio anche per gli stipiti da *Spartium junceum* e da *Dorycnium*.

Una terza esperienza positiva è quella su tubercoli di *Spartium junceum* che ha dato netta e rapida agglutinazione nascente col *radicicola* da *Spartium junceum*, e negativa (nel senso di cui sopra) con quelli da altre sei leguminose, uno dei quali è fra quelli da pisello che avevano reagito in modo nettamente positivo al succo di tubercoli di pisello. Si deve però notare che il germe da *Spartium junceum* risulta, da altre esperienze dell'A., talora autoagglutinate (Saggio n. 8 a pag. 11 dell'estratto del lavoro 1928) e talaltra agglutinato da succo di tubercoli di *Pisum* (Saggio n. 1 ibidem, pag. 8) e di *Lathyrus* (Saggio n. 5, ibid. pag. 10). Le altre esperienze di questa serie vertono sopra succo di fusto di pisello, e sopra succhi di tubercoli inattivati col calore, o di tubercoli di altre leguminose (*Phaseolus vulgaris*, *Latyrus odoratus*, *Vicia faba*, *Robinia pseudacacia*), e non hanno dato risultati positivi.

Sono dunque tre esperienze in tutto; troppo poco, evidentemente, per trarre conclusioni definitive, quando si tenga conto della saltuarietà e pseudospecificità che caratterizzano, come abbiamo visto, i pseudoanticorpi. E ciò tanto più se teniamo conto che nessun altro A. ha pensato ancora di indagare, sugli pseudoanticorpi conosciuti, l'attitudine o meno a dare l'agglutinazione *in statu nascendi*.

Ho voluto esaminare così minuziosamente i lavori del CAPPEL-

LETTI, perchè essi sono i soli che finora adunino così larga messe di fatti in favore o dell'esistenza di veri fitoanticorpi, o almeno di un'effettiva funzione difensiva dei pseudoanticorpi: e non posso a meno di concludere coll'esprimere l'augurio che o l'Autore, o altri da solo o con lui, voglia proseguire fino a sicure conclusioni l'interessantissimo studio da lui intrapreso.

b) *Precipitine.* — Su questo argomento nulla ho da aggiungere a quanto ho già detto a proposito delle pseudoprecipitine. (Vedi pagina 158) (1).

c) *Lisine e cidine.* — Fatta eccezione per i risultati negativi ottenuti dal PICADO per inoculazione d'emazie in cladodi di *Opuntia* sp., non mi risulta che altri all'infuori di noi abbia affrontato il problema della produzione immunitaria d'emolisine nelle piante.

Un primo gruppo d'esperienze, tuttora inedite salvo qualche accenno nei nostri lavori, fu compiuto da me dal maggio al luglio 1920.

Come ho già detto a pag. 135, con una serie di prove preliminari si era stabilito che: 1° il succo di patata contiene normalmente una sostanza emoagglutinante ed antiemolitica; 2° entrambe le azioni di questa sostanza possono essere attenuate dalla diluizione con soluzione fisiologica, e possono essere eliminate, o molto attenuate, dall'aggiunta di un volume di albume d'uovo; 3° l'albume, nella dose impiegata in queste esperienze, non è emolitico, e non ostacola l'emolisi da ambocettore e complemento.

Ciò posto, in una prima serie di esperienze si inocularono per excisione di *tasselli* (v. pag. 201) due patate novelle con una quantità indeterminata di emazie di montone (sospensione al 5% in soluzione fisiologica sterile), una sulla faccia portante lo stolone e l'altra di lato; una terza patata venne in pari modo inoculata soltanto con soluzione fisiologica, per controllo, ed al gruppo si unì allo stesso scopo una patata non inoculata, tenendo il tutto all'ambiente.

---

(1) Questo libro era in corso di stampa, quando è apparso l'interessante lavoro di D. KOSTOFF, *Acquired immunity in plantes*; nel quale si studia la presunta formazione, negli innesti di varie piante (soprattutto del genere *Nicotiana*), di precipitine agenti su estratti del porta innesto. I risultati di questo lavoro, indubbiamente molto importanti, non escludono però la possibilità che si tratti anche qui di pseudoanticorpi. Si tratta, inoltre, di reazioni molto delicate, e ricche, per loro conto, di cause d'errore (MORITZ).

Il 15 VI, cioè dopo quarantun giorni, le patate furono aperte, col che si vide che quella inoculata con soluzione fisiologica era invasa da muffe, mentre le due con emazie avevano le superfici di taglio rivestite di subero sotto il quale si vedeva una tinta rosso-bruna, ed erano perfettamente sane, come la patata integra di controllo; poi le si spremette col torchio idraulico (*presse* di Buchner) in uso per le preparazioni opoterapiche, e si ottenne così un succo rossobruno verdiccio dalle patate con emazie, e del normale colore gialliccio dai controlli. Questo, diluito al decimo con soluzione fisiologica fu cimentato: con sole emazie di montone, con emazie più complemento (di cavia), con emazie più ambocettore antimontone. Dopo due ore a 37° C. non v'erano emolisi: ma dopo altre diciotto ore all'ambiente ve n'era una traccia nelle provette con sole emazie e con emazie più ambocettore della patata inoculata con globuli rossi presso lo stolone, ed in tutte le provette con emazie e complemento, ad esclusione di quella della patata non inoculata.

Una serie parallela di prove allestite diluendo assai meno i succhi e nella quale si sperimentò soltanto l'aggiunta di sole emazie diede, dopo due ore a 37° C., emoagglutinazione assai minore per le due patate inoculate con emazie che pei due controlli; dopo altre 18 ore all'ambiente, emolisi molto leggera, ma netta nella patata inoculata con emazie presso lo stolone e meno leggera nell'altra patata emazie.

In un altro analogo gruppo di esperienze, in cui si aggiunse del bicarbonato sodico, si ebbero dopo 2 ore a 37° C. più 24 ore in frigorifero emolisi leggera o discreta per le patate emazie, ma vi furono emolisi — e non sempre più lievi — nelle due patate di controllo; si deve però notare che a tal momento i succhi, benchè tenuti in frigorifero, cominciavano ad alterarsi, essendo stati spremuti già da 24 ore all'inizio e da 48 alla fine di queste esperienze.

Constatata nel frattempo la citata proprietà dell'albume d'uovo, iniziai un secondo gruppo di esperienze.

Per essa quattro patate novelle furono inoculate colla solita tecnica e presso lo stolone con circa cc. 0,3 a 0,5 ciascuna del sedimento depositatosi col riposo in una sospensione d'emazie di montone al 5% in soluzione fisiologica, e l'inoculazione fu ripetuta settimanalmente, excidendo ogni volta un nuovo tassello al polo del tubero portante lo stolone, per altre tre volte.

Una delle patate fu aperta e poi schiacciata alla *presse,* a cento atmosfere, nove giorni dopo l'ultima inoculazione, un'altra quindici, le altre due non vennero utilizzate. Le due patate di cui ora si è detto risultarono al taglio perfettamente sane, con ferite suberificate e da rosso cupo a nere, con qualche diffusione rossiccia all'intorno, e diedero un succo di color marrone vivo ed intenso, con decisa intonazione rossiccia: per entrambe, il succo venne sempre conservato sotto olio di vaselina, in un recipiente con ghiaccio, posto alla sua volta in ghiacciaia (v. pag. 193).

Constatato che il succo della prima patata conteneva pseudo-antiemolisina e che questa era, se non eliminata, almeno in gran parte inattivata da un egual volume di albume, si ricorse a questo per una serie di prove (sempre fornite anche di un controllo senza albume e dei soliti controlli senza succo) cimentando il succo di fronte sia a quantità varie di emazie sole (cc. 1 a cc. 0,2, su un volume totale di liquido di 3 cc.) sia a queste più complemento. E dopo un'ora a 2½ a 37° C. e 24 a 48 ore in ghiacciaia, si ebbe costantemente emolisi, da debole a forte, dove vi era il succo con albume, e generalmente (ma non sempre) più forte dove si era aggiunto il complemento; l'emolisi fu invece sempre nulla o lievissima pel succo senza albume, nulla nei controlli composti di sole emazie e soluzione fisiologica, lieve o nulla nei controlli contenenti anche il complemento (che è, notoriamente, spesso lievemente emolitico di per sè).

Il succo della seconda patata fu impiegato per una larga serie di esperienze, nelle quali esso venne usato o tal quale o pastorizzato per 5' in bagno maria bollente (col che vi si formava un coagulo e si perdeva la tinta rossiccia) ma sempre addizionato poi di egual volume di albume d'uovo. Il succo crudo venne cimentato con o senza complemento, di fronte ad emazie di montone, di bue, di cavallo, sospese al 5% in soluzione fisiologica; quello pastorizzato venne saggiato solo colle emazie di montone. Ma i risultati di questa serie furono contradditorî fra loro e colle precedenti. Le emazie di montone non furono quasi affatto emolizzate dal succo crudo, e lo furono invece dal pastorizzato ma soltanto in presenza del *complemento,* che per se stesso era però questa volta privo d'azione emolitica per tali emazie; quelle di bue, che col solo complemento avevano dato un'emolisi estremamente lieve, furono lisate dal succo crudo, specialmente con comple-

TABELLA 11. —

N.° progressivo	Tecnica	Materiale inoculato (1)	Emolis		
			Emazie montone sole (a)	Emazie montone più complemento (b)	Emazie montone più ambocettore (c)
145	III (laurocer.)	Emaz. mont.	— anche dopo 24 ore	— anche dopo 24 ore	— anche dopo 24 ore
146	I *C* (gelso)	Emaz. montone in acqua	—	+	—
147	I *C* (»)	Idem	—	++	
148	I *C* (»)	Idem	—	+	
149	Liquido 146-148 bollito a fiamma diretta.	Idem	—	—	
150	Liq. 146-148 30′ a 56° C ...	Idem	—	—	
151	I *C* (gelso)	Idem	—	—	
152	I *C* (»)	Emaz. coniglio in acqua	—	+	
153	I *C* (»)	Emaz. cavallo in acqua	±	—	
154	I *B″* (laurocer. su gelso) ..	Emaz. montone in acqua	±	+	
155	I *D* (gelso)	Idem	—	++	
156	II *D* (»)	Emaz. montone	—	—	
157	II Linfa libro da picciuolo di foglia (gelso).	Emaz. montone in acqua	—		
158	II Linfa libro da ramo (gel.).	Emaz. montone in acqua	—		

---

(1) Le emazie da inoculare si sono sempre usate lavate, ed in sospensione al 5 % (che i per centrifugazione in soluzione fisiologica. I segni (dal ± al +++) denotano la crescen

EMOLISINE.

con			
Emazie montone più compl. più ambocet. (d)	Altre emazie sole (e)	Altre emazie più complem. (f)	*Osservazioni*
+ + +			Lieve emoagglutinazione.
+ + +			liquido prelevato dopo 3 giorni Controlli senza liquido del T. (a) (b) (c) —, (d) + + +
	coniglio ±	±	Controlli come sopra: (a) —, (b) +, (e) ed (f) +
	cavallo — coniglio —	cavallo + coniglio ±	Controlli: (a) e (c) —, (e) cavallo —, (f) cav. ±, (e) ed (f) coniglio —.
			Controlli: (a) e (b) —
			Controlli: (a) e (b) —
	cavallo — coniglio ±	cavallo ± coniglio ±	Controlli: (a) e (b) —, (d) ed (e) cavallo +, id. con. ±
	cavallo — coniglio +	cavallo + coniglio +	Controlli: (a) +, (b) —, (e) cav. — (f) cav. —, (e) ed (f) con. +; prelievo del liquido dopo 4 giorni.
	cavallo ± coniglio +	cavallo ± coniglio +	Controlli: (a) e (b) — (e), ed (f) cav. +, (e) ed (f) con. +; prelievo del liquido dopo 4 giorni.
			Controlli: (a) —, (b) +
			Controlli: (a) —, (b) ±
			Controlli: (a) —, (b) ±
			Prelievo dopo otto giorni.
			Prelievo dopo otto giorni.

cqua, naturalmente, era emolizzata). Solo per il N. 145 si sono usate le emazie sedimentate
ntensità dell'emolisi; —, emolisi nulla.

mento; quelle di cavallo, più emolizzate che le altre dal complemento, in presenza del succo crudo furono fortemente emolizzate in assenza di complemento, e quasi per nulla in sua presenza.

È davanti a questa incongruenza si arrestarono allora le mie ricerche le quali, essendo anteriori di almeno un anno alla pubblicazione del Picado, sono forse le prime in questo campo, ed i cui risultati, malgrado le varie cause d'errore che possono viziarli, non mi sembrano privi di qualche interesse.

Le pseudoantiemolisine sono intervenute ad ostacolare la ripresa delle ricerche sul succo di pressione del lauroceraso, e la pseudoemolisina ha fatto altrettanto riguardo alla linfa del legno del gelso; ma, ogni volta che queste cause d'errore non sono apparse, i risultati sono stati nettamente negativi (v. tab. II).

E completamente negative furono le esperienze compiute col compianto França, nutrendo per quattro o per otto giorni *Drosophyllum lusitanicum* con emazie di montone, poichè gli estratti clorurosodici sia delle glandole che delle foglie, non diedero traccia d'emolisi nè con emazie sole, nè con queste più solo complemento, o più solo ambocettore. E qui era esclusa, da riprove nelle stesse foglie e in altre normali, anche la presenza tanto di pseudoemolisine, quanto di pseudoantiemolisine, mentre l'aspetto assunto dalle foglie (vedi fig. 30), sta chiaramente a dimostrare, che esse avevano assimilato e digerito le emazie somministrate.

Per quanto riguarda la pollinolisina di Picado, e le batteriolisine che Schiff-Giorgini e Wagner, descrivono accanto alle agglutinine da loro trovate, nulla avrei da aggiungere a quanto ho detto per queste ultime; noi non abbiamo sperimentato su questo tema. E neppure abbiamo di proposito ricercato l'eventuale formazione d'antiemolisine per inoculazione d'emolisine; perchè l'unica esperienza che io trovi in questo senso fra i miei appunti era stata allestita con un campione di ricina che si mostrò poi di per se stesso inattivo, mentre per le esperienze d'assorbimento di ambocettore non è il caso di affermare nulla in questo senso, essendo mancate ricerche apposite meno grossolane della semplice constatazione del mancato impedimento d'azione pel sistema emolitico completo.

Un tentativo di deviazione del complemento, infine, — da me impostato nel giugno del 1920 col succo di varie patate inoculate di *Ba-*

cillus aterrimus (vedi pag. 169) è stato interamente impedito dalla pseudoantiemolisina, e non ho ritenuto opportuno ripeterlo poi coll'aggiunta d'albume, per timore che questa introducesse nuove cause d'errore in una reazione così delicata.

d) *Antitossine.* — I noti studi del Ciamician e della sua scuola avevano dimostrato che le piante vive in parte eliminano, ma in parte anche distruggono sostanze tossiche che vengano inoculate in esse, come ad es. la piridina e la nicotina; e quest'A. aveva anche notato, nelle ricerche sull'influenza di sostanze venefiche diverse sulla germinazione e sviluppo delle piante, dei fenomeni che potrebbero forse rapportarsi ad un'assuefazione al veleno, come ad es. il fatto che le piantine di fagiuolo, innaffiate dall'inizio della germinazione con soluzione all'1 per mille di nicotina allo stato di tartrato, presentavano gravi lesioni seguite da disseccamento nelle prime foglie semplici ed albinismo dei bordi nelle prime foglie composte, mentre le foglie successive differivano dal normale sol-

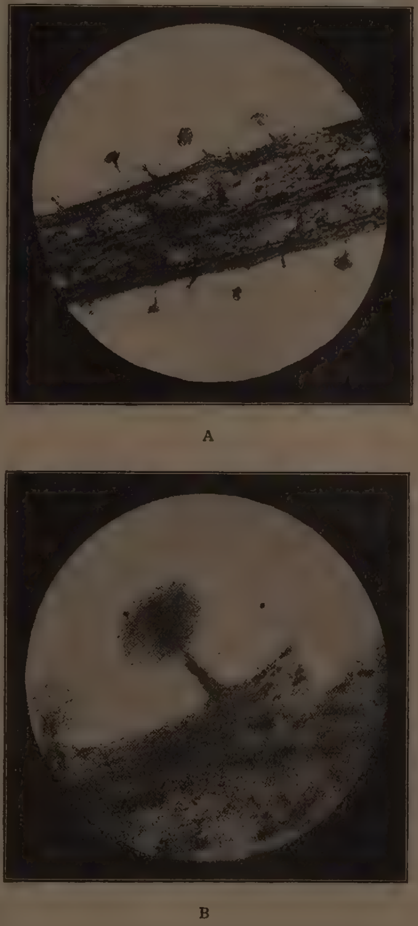


Fig. 30 – Foglia di *Drosophyllum lusitanicum* nutrita con emazie di montone (fotografie originali da un preparato del França). *A*. Veduta d'insieme a piccolo ingrandimento. – *B*. Ghiandola peduncolata, più ingrandita.

tanto pel colore più cupo. Il CIAMICIAN dimostrò inoltre che tessuti vegetali (poltiglia di spinaci o di mele) possono, in presenza di ossigeno, ossidare parecchie sostanze, ed in ispecie alcuni alcaloidi (morfina, chinina, cinconina).

Di un'assuefazione ai tossici può pure parlarsi nelle esperienze dello HURSH: fusti recisi di piante varie, messi in fresco in filtrato di liquido culturale di funghi patogeni, appassiscono; rimessi in acqua fresca riprendono il primitivo turgore ed allora « appassiscono più « lentamente o non appassiscono affatto, quando si rimettono ancora « nello stesso filtrato di fungo. Con tale metodo, si possono avere « delle piante, come i cavoli ed i cavolfiori, che restano del tutto sane « in un filtrato capace di fare apppassire rapidamente le piante recise « di fresco. D'altro lato si osserva che le piante che appassiscono, « si ristabiliscono in seguito, restando nello stesso filtrato ». Questa è la testuale traduzione delle parole dello HURSH.

Nel 1925 il SANTORI pubblicò di aver rilevata un'azione antitossica negli estratti di piante che avevano assorbito veleni organici e tossine, ma non mi consta che altre sue note abbiano seguito la prima, invero troppo succinta.

Noi pure abbiamo avuto in animo di lavorare anche in questo campo: ma pel sopravvenuto cambiamento d'ufficio della persona che avrebbe dovuto svolgere queste ricerche, esse rimasero limitate a poche prove orientative di germinazione di semi diversi in presenza di sali di stricnina.

Ritengo però che dell'argomento si stia ora occupando un importante laboratorio estero.

⁂

Ricapitolando: non riteniamo dimostrato che le piante possano produrre anticorpi, e meno ancora che questi si riversino nei succhi in esse circolanti; ma non pensiamo che sia neppure ancora indiscutibilmente dimostrato l'opposto.

§ 5. – TECNICA.

a) GENERALITÀ.

Il paragrafo adibito alla descrizione della tecnica non può, nel campo qui trattato, restringersi ad una pura descrizione delle manualità impiegate per le singole modalità sperimentali: perchè anzitutto è necessaria una discussione critica della metodica generale, la cui impostazione ha importanza non indifferente per l'interpretazione e valutazione dei risultati.

E innanzi tutto si pone il problema: in quali, tra i liquidi della pianta, si devono ricercare gli eventuali fattori umorali della immunità? Nel succo cellulare, nel latice (ove esiste), nella linfa greggia, nella linfa elaborata? O in ciascuno di questi liquidi? Vedremo in seguito, che in realtà gli AA. che ci avevano preceduto in questi studi non si erano praticamente posti questo problema: e salvo qualcuno isolato, che aveva talora provveduto anche ad estrarre il succo cellulare per puntura (WAGNER) o a limitare la sua indagine al latice gemente dai fusti incisi (KOŘINEK), tutti gli altri avevano senz'altro prescelto il mezzo più agevole, e perciò avevano adoperato il succo ottenuto per spremitura, o estratti ricavati tritando gli organi vegetali insieme ad acqua o a soluzioni isotoniche. E credo che siamo stati noi i primi a richiamare l'attenzione sul fatto, che il succo di spremitura non è un liquido che preesista come tale nella pianta, ma un artefatto: in quanto il fracassamento delle cellule porta a mescolarsi fra loro sostanze che, nel vegetale vivo, mai sarebbero venute a contatto, e che possono anche reagire fra loro in modo da alterarsi reciprocamente. Si pensi, infatti, a ciò che può avvenire delle albumine a contatto coi tannini; si rifletta all'azione delle ossidasi sui rispettivi substrati, azione ch'è difatti dimostrata dal rapido annerirsi di molti succhi di spremitura od estratti; e non sarà difficile convenire che un liquido di questo genere, anche se non si voglia adottare l'efficace espressione di « monstruosité chimique » adoperata dal KOŘINEK, è però certamente, almeno nel maggior numero dei casi, un prodotto artificiale, e nel quale anche anticorpi effettivamente presenti potrebbero trovarsi paralizzati od essere distrutti.

Di qui i nostri sforzi per ricercare — come dirò meglio in seguito — una via che ci permettesse di raccogliere e studiare partitamente le due linfe, o almeno dei liquidi che, per genesi e per modo di raccolta, si avvicinassero il più possibile agli umori naturali della pianta.

E poichè questo è il punto saliente di tutto il paragrafo, sarà bene che venga esposta questa parte della tecnica prima dell'altra — più semplice e meno controversa — della somministrazione alla pianta delle sostanze destinate ad esserne assorbite, che nell'ordine logico parrebbe invece destinata ad essere trattata per prima.

b) RACCOLTA DEI SUCCHI.

Il succo di pressione è ottenuto, dai vari AA., con lo schiacciamento a pressione più o meno alta (che va dalla contusione manuale in mortaio all'impiego del torchio idraulico a 200-300 atmosfere) degli organi vegetali, più o meno triturati o spezzettati.

Gli estratti invece si fanno per tritatura in mortaio — eventualmente con polvere di vetro o di quarzo o sabbia silicea — ed aggiunta d'acqua, o di soluzione fisiologica clorurosodica, o d'altre soluzioni isotoniche, che talora sono invece impiegate soltanto per la successiva diluizione del succo od estratto (saccarosio al 5% eventualmente fenicato o nitrato potassico all'1%, CAPPELLETTI; soluzioni di cloruro potassico isotoniche coi succhi, e cioè dall'1,01 all'1,54% a seconda delle piante, SARDIÑA).

Comunque i liquidi devono essere, quanto è possibile, limpidi. A tale scopo essi vengono, dai più, centrifugati. La filtrazione per carta è generalmente innocua, ma spesso insufficiente; quella per amianto alla centrifuga (metodo VIGANO'), ed ancor più quella per candele Chamberland o Kitasato, talora sono utilizzabili (agglutinine del CAPPELLETTI), ma non di rado trattengono le sostanze attive.

Ma non basta che il liquido sia limpido al momento della raccolta: per molte ricerche (azioni agglutinanti e precipitanti) occorre ch'esso rimanga tale fino al termine delle esperienze. Ed a ciò non basta che i succhi siano usati freschissimi (il che è sempre molto opportuno) o conservati con aggiunta d'antisettici (in genere, fenolo al 0,5%) e col tenerli in ghiacciaia a temperature prossime a 0° C: perchè spesso essi vengono alterati dalle ossidasi che vi sono contenute, e che, agendo sulle loro sostanze ossidabili, danno luogo alla formazione di composti generalmente di colore oscuro ed insolubili, che in breve rendono il liquido da bruno a nero e vi provocano intorbidamenti o precipitati. Per ovviare a tale inconveniente, spesso gli AA. consigliano di scartare le piante che hanno tale difetto: ma ciò equivale, evidentemente, ad eliminare dal campo dei nostri studî tutta una serie di piante, che potrebbero anche essere interessanti da qualche punto di vista. Altri raccolgono il liquido in capillari che vengono subito saldati alla lampada, e poi bene centrifugati (CAPPELLETTI). Non si può utilmente eliminare le ossidasi per riscaldamento, perchè in una nostra esperienza abbiamo trovato che quella del succo di patata resiste per 15' a 70° e per 10" a circa 100° (bagno maria bollente) e si distrugge solo in 5' a 80° C., mentre già in 5' a 60° si ha nel succo una coagulazione.

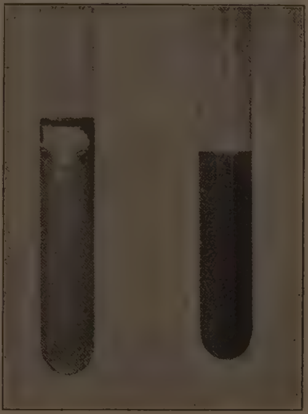


Fig. 31 – Succo di spremitura di patata, con e senza olio di vaselina.

Noi ricorriamo, invece, ad un sistema assai semplice, e che le opportune *prove in bianco* e di controllo ci hanno dimostrato assolutamente innocuo per le reazioni immunitarie in questione; l'aggiunta, cioè, d'olio di vaselina, eventualmente seguita da immediata disaerazione del succo (v. fig. 31). Noi mettiamo l'olio nel recipiente stesso in cui viene poi raccolto il succo; sicchè questo, man mano che vi giunge, fa galleggiare l'olio stesso, e ne viene così subito protetto. Poi il recipiente vien posto in apparecchio adatto (come un essiccatore a vuoto, l'apparecchio Maymone per culture anaerobiche, ecc.) in cui si pratica un buon vuoto alla pompa. Il recipiente viene in seguito estratto dall'apparecchio e tenuto, se occorre, in ghiacciaia.

Per fare le necessarie reazioni (agglutinazione, emolisi, ecc.)

si mette previamente un po' d'olio di vaselina nelle singole provettine; qui non occorre di ripetere la disaerazione.

Uno strumento assai utile per la spremitura estemporanea di piccoli organi, o porzioni d'organi, vegetali, specie a titolo di — diremo così — *salasso di prova* nel corso d'esperienze immunitarie, è dato dalla *tenaglia di* MUNERATI e MEZZADROLI (v. fig. 32) ideata da questi per raccogliere qualche goccia di succo dalle bietole; noi ce ne siamo serviti, ad esempio, per schiacciare dischi excisi con un foratappi da cladodi di *Opuntia*.

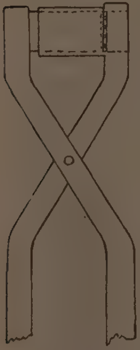


Fig. 32 – Tenaglia di MUNERATI e MEZZADROLI (figura schematica). Il succo spremuto cola attraverso al dischetto di rete metallica posto nella branca destra della tenaglia.

Altrettanto agevole è la raccolta della linfa elaborata, ma solo in quantità assai piccola; noi la facevamo, infatti, incidendo leggermente la corteccia d'un rametto o d'un picciolo fogliare, ed aspirando in una pipetta Pasteur le poche goccie del liquido lattiginoso che ne gemeva, per portarle subito nelle provettine già contenenti il reattivo da sperimentare. Del vano tentativo di ottenere e raccogliere linfa elaborata in altro modo si è già detto a pag. 131, e l'apparecchio relativo si è raffigurato a fig. 29.

Assai più complesse furono le ricerche sulla tecnica di raccolta della linfa del legno.

Una prima serie d'esperienze ci aveva dimostrato l'impossibilità di far gemere tale linfa dall'estremità mozzata di un ramo reciso o da un'intaccatura laterale di esso, anche se sommersi in acqua ed anche se recisi sott'acqua; il liquido saliente, colorato all'uopo con eosina, non oltrepassava infatti il livello della più alta foglia superstite.

Ci proponemmo perciò di sostituire con un tubetto di vetro un tratto intercalare del ramo, in modo da poter sorvegliare la corrente ascendente per il legno senza interromperne la continuità.

Un primo dispositivo fu costituito appunto da un tubetto di vetro lungo tre o quattro centimetri, e portante, a ciascuno dei due estremi, un pezzetto di tubo di gomma.

Un ramo di lauroceraso o di gelso, munito delle sue foglie, veniva diviso in due parti; del pezzo inferiore si scortecciava per qualche centimetro l'estremo superiore, e del pezzo superiore l'estremo inferiore. Poi si infilava nel tubetto il capo scortecciato del pezzo di ramo inferiore, con una pipetta Pasteur si colmava d'acqua il tubetto, e poi vi si infilava sopra il pezzo superiore. Il ramo così montato, veniva allora immerso — così come si mettono *in fresco* i fiori — in un boccaccio contenente acqua, addizionata d'eosina (v. fig. 33-*A*): a meno che non si trattasse, invece, di un ramo tuttora facente parte d'una pianta intera, alla quale si inoculassero liquidi coi dispositivi di cui si dirà in seguito. Ma ben presto si vide come delle bollicine si sprigionassero dal midollo della parte inferiore del ramo e si raccogliessero nella parte alta del tubetto di vetro, interrompendo così la colonna liquida. Perciò si ripetè la prova dopo di aver tolto, fino alla profondità d'un centimetro circa, il midollo dei due capi di ramo affaccianti nel tubetto, e di averlo sostituito con mastice da vetraio; il taglio del legno era poi recentato con un rasoio al momento di montare l'apparecchio (v. fig. 33-*B*). Per tal modo si ottenne, in 24-48 ore, l'arrivo dell'eosina nell'acqua del tubetto, ed il suo successivo passaggio ai vasi legnosi del pezzo superiore del ramo. Però subito si vide che la poca acqua del tubetto era molto

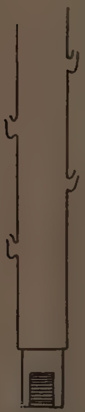
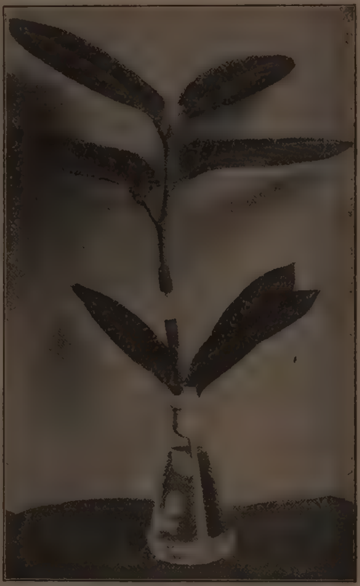


Fig. 33-B



A

Fig. 33 – Primo dispositivo per l'esame della linfa del legno: tubetto di vetro diritto, ramo scortecciato con o senza mastice nel midollo. In alto si è raccolta una bolla gazosa. *A*. Veduta d'insieme. *B*. Sezione schematica di un'estremità del ramo, per mostrarne la scortecciatura e il riempimento con mastice dell'incavo nel midollo.

rapidamente assorbita, e d'altra parte un pò di gas veniva egualmente a raccogliersi in alto; d'altro lato, col dispositivo qui descritto, non si poteva prelevare liquido dal tubetto senza sfilarne il pezzo superiore o — come noi lo chiamavamo pel suo ufficio — *ramo pompante.*

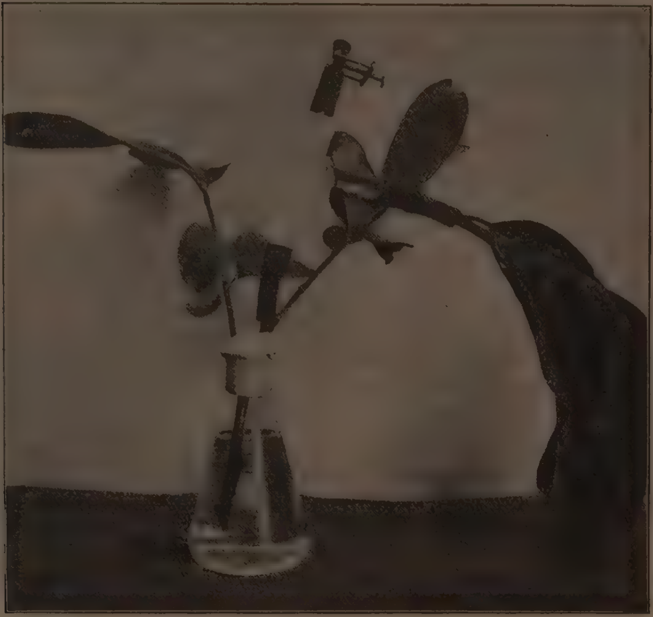


Fig. 34 – Secondo dispositivo per la linfa del legno: tubo a *T* pieno di acqua, aspirazione col *ramo pompante* (modalità *A* dello schema a pagg. 206-207).

Perciò decidemmo di sostituire il tubo rettilineo, con uno a forma di *T*. Questo veniva disposto in modo che il pezzo inferiore del ramo ed il *ramo pompante* fossero infilati in due branche perpendicolari fra loro, mentre la terza, che si teneva rivolta allo insù, era chiusa da un tubetto di gomma serrato da una pinza, e serviva sia a raccogliere la solita bolla gasosa, sia a permettere i prelievi ed i rifornimenti dell'acqua del tubo (v. fig. 34). Visto poi che il ramo pompante di lauroceraso restava fresco ed attivo più a lungo di quello di gelso, in alcune esperienze impiegammo il gelso pel *ramo inferiore* ed il lauroceraso pel *pompante*. E con tali dispositivi s'iniziarono le esperienze coi sieri e con gli antigeni.

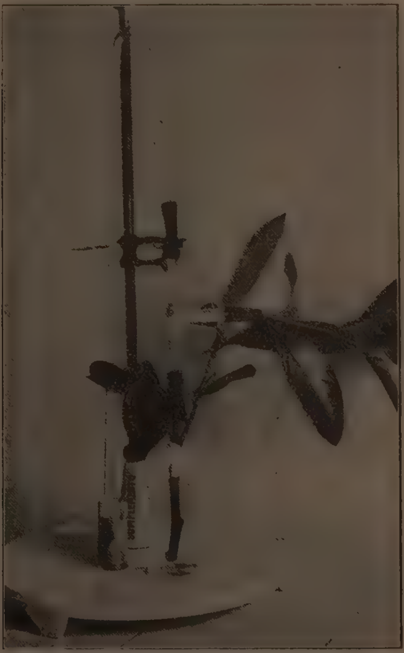


Fig. 35 – Terzo dispositivo per la linfa del legno: tubo a *T* e tubo manometrico pieni d'acqua, aspirazione col *ramo pompante* (modalità *B* dello schema a pagg. 206-207).

Volendo farci un'idea dell'aspirazione esercitata dal *ramo pompante*, ed in pari tempo aumentare la quantità di acqua disponibile nel tubo a *T* per ovviare alla lentezza con cui non di rado il suo assorbimento era compensato dall'arrivo dell'acqua saliente traverso il *ramo inferiore*, noi aggiungemmo poi il collegamento della branca verticale del *T*, a mezzo d'un tubo di gomma, con un tubo di vetro ricurvo, pieno pur esso di acqua e pescante in un cilindro di vetro contenente mercurio: per tal modo stabilimmo che quest'ultimo giungeva ad elevarsi, al massimo, di 25-30 cm. (v. fig. 35).

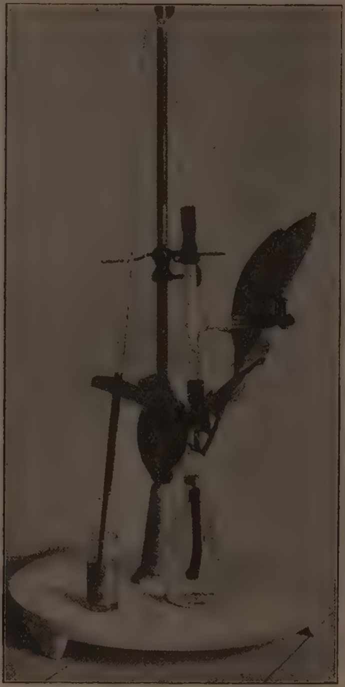


Fig. 36 – Quinto dispositivo per la linfa del legno (il quarto, non raffigurato, differisce da questo solo per la maggiore quantità d'acqua nel tubo a *T*). Tubo a *T* con poca acqua, con tubo manometrico; aspirazione con la pompa (modalità *D* dello schema a pagg. 206-207).

A questo punto ci fu obiettato che dal *ramo pompante*, specie quando questo era presso all'appassimento, avrebbero potuto diffondere nell'acqua del *T* sostanze eventualmente perturbatrici per le nostre esperienze. Tentata perciò, senza risultato, la sostituzione del *ramo pompante* con un imbuto pieno d'acqua chiuso da una garza che vi bagnava — e che per evaporazione avrebbe dovuto aspirare — decidemmo di fare il vuoto, d'un sol colpo sebbene con qualche cautela, con una pompa pneumatica, serrando poi con una pinza la gomma del corrispondente estremo del *T*. E poichè, in tal modo, cessava la necessità di avere nel tubetto molta acqua a disposizione del *ramo pompante*, si potè anche ridurre la quantità di questa ai pochi centimetri cubi necessari a mantenere fuori del contatto dell'aria l'estremo superiore del *ramo inferiore* (v. fig. 36); la detta

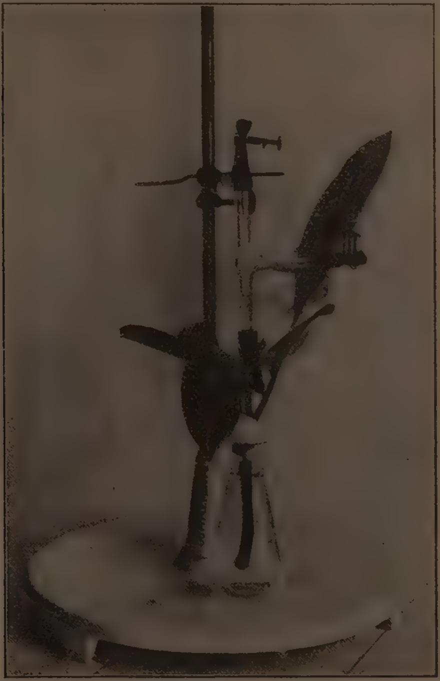


Fig. 37 – Sesto dispositivo per la linfa del legno: eguale al precedente, ma senza tubo manometrico (modalità *E* dello schema a pagg. 206-207).

quantità dev'essere meno parca nelle esperienze che durino qualche giorno, per ovviare al suo eventuale assorbimento pel fenomeno della *pressione negativa* (v. pag. 119). Con ciò si aveva anche il vantaggio di diminuire la diluizione del liquido saliente al suo arrivo nel tubo a *T*. Ma usandosi la pompa, anche l'applicazione del tubo manometrico cessava d'essere necessaria, potendosi leggere la depressione sul vacuometro di essa durante il suo funzionamento: perciò anche il corrispondente estremo del *T* venne poi messo fuori funzione, e lo si sarebbe potuto sopprimere, se non si fosse voluta mantenere la possibilità di eventuali ritorni ai metodi precedenti (v. fig. 37).

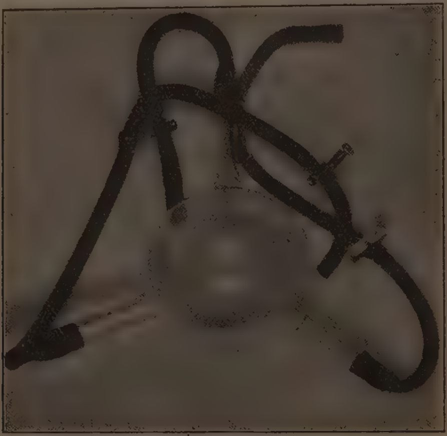


Fig. 38 – Pallone tubulato per fare l'aspirazione nel tubo a *T* delle piante in piena terra.

Non è a dire, infatti, che l'applicazione del vuoto a pompa — — sebbene ci abbia dato ottimi risultati — sia così scevra d'obiezioni come a noi era parsa. Al tempo di questi nostri studî (1924-25) noi non conoscevamo i lavori del Bose sul meccanismo di salita della linfa; e, ligi alle vecchie teorie della semplice aspirazione da traspirazione, ci parve indifferente che l'aspirazione fosse esercitata da un ramo o dalla pompa. Ma una differenza è evidente, comunque si concepisca tale meccanismo, fra l'azione lenta e graduale del *ramo* *pompante* e quella, più immediata e più brutale, della pompa; ed una differenza anche più notevole appare ora fra l'aspirazione a ritmiche onde peristalsiche descritta dal BOSE, e l'altra esercitata dalla pompa. Perciò consiglierei a chi volesse riprendere esperienze del genere, di ritornare all'uso del *ramo pompante*, escogitando — ciò che non mi pare difficile, eventualmente curvando le branche del *T* — un mezzo che permetta di interporre, fra l'acqua in cui pesca tale ramo e quella saliente, qualcosa che ne impedisca il miscuglio (p. esempio una bolla d'aria, o una goccia di mercurio o d'olio). Ora stiamo provando.

Per l'applicazione del metodo ultimo alle piante in piena terra, noi facevamo un certo grado di vuoto in un grosso pallone di vetro tubulato a pareti robuste (di quelli che si usano per la filtrazione in candela Chamberland) la cui tubulatura, fornita di un tubetto di gomma serrato da una pinza, era poi collegata a mezzo di un breve tubetto di vetro con la gomma di una branca del *T*, già messo a posto *more solito*. Aperta la pinza, causa la minima capacità del *T* rispetto al pallone, si stabiliva subito in quello la voluta depressione; allora si chiudeva con la pinza la gomma del *T* e si staccava il pallone (v. fig. 38).

c) SOMMINISTRAZIONE DEI MATERIALI DA ASSORBIRE.

In tutte le esperienze dei precedenti AA. i materiali da assorbire (colori, antigeni, ecc.) erano sciolti o sospesi in acqua, o in soluzione fisiologica, od altre soluzioni isotoniche, e poi venivano inoculati, generalmente con siringa, od anche — nel caso di rami recisi — per immersione dell'estremo inferiore di questi nel liquido, così come si fa per mettere in fresco i fiori (metodo, quest'ultimo, di cui ci siamo spesso valsi anche noi, avendo però cura, in molti casi, di scortecciare la parte immersa per avere una minor diffusione di sostanze estranee nel liquido).

Ma l'iniezione con siringa, nelle piante, è tutt'altro che agevole, e si limita quasi esclusivamente agli organi succosi ed alle piante grasse. Perciò noi ce ne siamo serviti di rado (cladodi di *Opuntia*): e per lo più per gli organi spessi e succosi (tuberi di patata, tubercoli di dalia) abbiamo preferito il metodo che chiamerò *del tassello*. Con un bisturì sterile si fanno nel tubero (previamente disinfettato con impacco d'alcool, o per bruciacchiatura locale sul dardo della soffieria) quattro profonde incisioni dirette in senso convergente fra loro. Si excide così un tassello a forma di piramide, colla base, rettangolare, verso la buccia. Questo tassello è afferrato con pinza sterile, e poi col bisturì stesso se ne amputa la punta. Si introduce allora, con pipetta o coll'ansa, il materiale da inoculare nel foro così scavato; si rimette a posto il tassello; si protegge con una piccola falda di cotone idrofilo, fissata tutt'intorno con un pò di gomma arabica, badando che questa sia lontana dai tagli. Il tassello raramente giunge a saldarsi con la parete del foro; ma se ciò non avviene tanto la superficie dell'uno, come quella dell'altro, se il materiale iniettato non era per sè infettante, si riveste dopo qualche tempo di un robusto strato di subero, come avevo già constatato quando per la prima volta usai questo metodo nel 1917 (v. fig. 39).

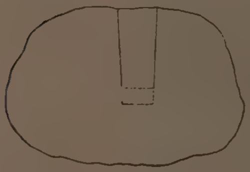


Fig. 39 – Inoculazione della patata col metodo del *tassello* (sezione schematica).

Quando si tratti di inoculare germi vivi è più semplice aspirarne una cultura liquida in una pipetta Pasteur piuttosto breve e robusta, che s'infigge nel tubero previamento disinfettato localmente alla fiamma. La pipetta (che ha, naturalmente, il suo tappo di cotone all'estremo superiore) si può lasciare *in situ* (v. fig. 40) oppure la si estrae, si ricaccia nella ferita il piccolo cilindro di parenchima ch'essa aveva inciso, si tappa il foro con un po' di vaselina, e si protegge con cotone com'è detto sopra. Tanto coll'uno come coll'altro sistema, se i microrganismi inoculati non erano patogeni, la ferita suberifica e guarisce; in caso contrario, dalla lesione si può reisolare l'agente.

I nostri tentativi per ottenere il passaggio nella linfa elaborata di sostanze inoculate non sono, come si è detto, riusciti. La tecnica seguita consisteva nell'introdurre le sostanze stesse, in forma liquida, in una leggera pipetta di vetro, che s'infiggeva nel parenchima fogliare in corrispondenza della nervatura mediana e si teneva a posto con legature di rafia; in seguito, visto che il minutissimo lume di tali pipette si occludeva facilmente, se ne usarono di un poco più grosse (2 a 3 cm. di lunghezza, con lume di 2 mm.) che s'infliggevano alla base dei picciuoli fogliari, sull'inserzione del ramo (v. fig. 41).

Per ottenere la salita di sostanze nella linfa del legno di rami recisi, il metodo usato da tutti — noi compresi — è generalmente quello dell'immersione *in fresco* come già si è detto. Nel vaso in cui i rami pescavano, il reattivo era sempre messo in quantità esuberante: così di sieri agglutinanti al titolo 1 : 1000 — 1 : 10.000 si usava una diluizione in acqua all'1-2%.

Più complicata si presenta la questione per le piante integre.

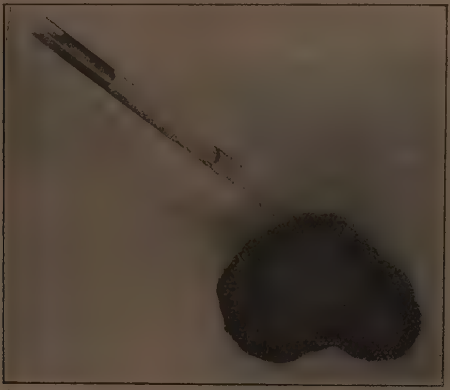


Fig. 40 – Inoculazione della patata col metodo *della pipetta*.

Il MÜLLER distingue i seguenti metodi usati per far assorbire pel legno delle piante vive soluzioni di sostanze coloranti, o medicamentose, o fertilizzanti, o dirette alla lotta contro parassiti animali o vegetali.

I) Assorbimento di liquidi (soluzioni);

a) assorbimento per le radici (integre o tagliate);

b) assorbimento pel fusto.

1) Senza tener conto della pressione negativa provocata dalla traspirazione;

2) tenendo conto della detta pressione (metodo SCEVIRIEFF);

3) col metodo speciale di REIMANN, che serve a provocare una tinzione del legno per assorbimento di coloranti, ma con ciò uccide la pianta.

II) Introduzione di sostanze solide solubili nei succhi della pianta (come nel metodo Perosino, per l'introduzione di cianuro di potassio nella linfa delle viti attaccate dalla filossera);

III) inaffiamento del suolo per provocare l'assorbimento ad opera delle radici intatte;

IV) assorbimento attraverso le foglie intatte.

Rimandando alla bella monografia del Müller per ogni altro particolare, dirò che noi ci siamo serviti di un metodo che rappresenta soltanto una semplificazione di quello del Scevirieff, in quanto, bastando a noi d'introdurre pochi cmc. di liquido, non ci occorsero i dispositivi usati da questo A. per rinnovare la provvista del liquido da assorbire.

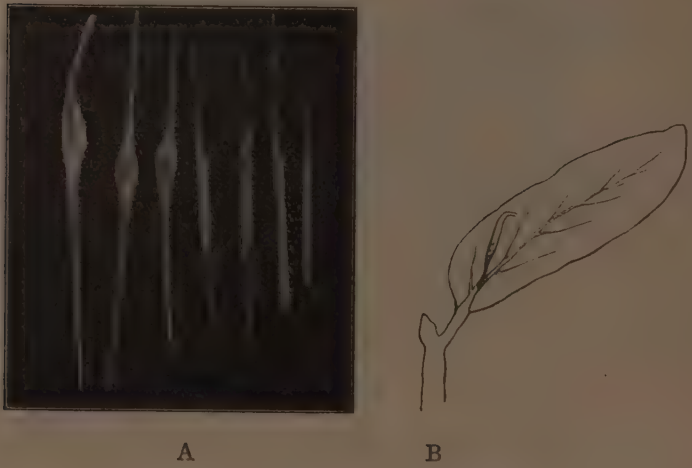


Fig. 41 – Inoculazione nella linfa del libro. *A*. Pipette di varie dimensioni in grandezza naturale. *B*. Pipetta in funzione.

Il nostro dispositivo non differisce, nel resto, da quello del citato A. Una pipetta d'ottone, a bordi taglienti dall'estremo più sottile, è introdotta in un foro poco profondo praticato col trapano se si tratta di un ramo grosso, oppure è infissa direttamente se il tessuto è più tenero; comunque, premendola o battendola un poco, e dandole un'opportuna inclinazione, essa rimane ben fissa nel legno. Allora la si riempie del liquido da far assorbire: poi vi si introduce un sottile succhiello di buon acciaio, che viene spinto e girato *more solito,* sì da scavare nel legno un foro abbastanza profondo. Poichè questa escavazione avviene sotto liquido, l'aria non può entrare nel foro: ed il liquido lo riempie appena il trapano è ritirato (v. fig. 42).

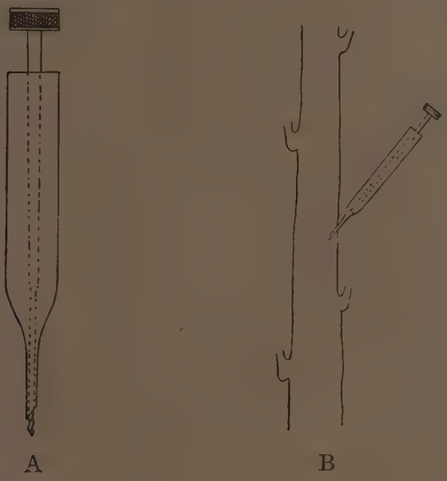


Fig. 42 – **Inoculazione nella linfa del legno.** ***A*****. Pipetta (a circa due terzi della grandezza naturale).** ***B*****. Pipetta in funzione.**

d) ESECUZIONE DELLE REAZIONI IMMUNITARIE.

Per tutte le reazioni a base di emazie occorre isotonizzare i liquidi. Ciò è fatto, o con l'aggiunta diretta di sali nella quantità necessaria (RUSCONI ad es., addizionava i suoi vini, privati di CO^2 e parzialmente neutralizzati, del 2% di citrato sodico), o per diluzione dei succhi con soluzione fisiologica clorurosodica: noi abbiamo invece preferito, per non aumentare di troppo la diluzione, di addizionare nove parti di succo (od estratto acquoso) con una parte di soluzione clorurosodica dieci volte più concentrata della fisiologica, e cioè all'8,5%. Tutte le reazioni si facevano, pel rimanente, con la tecnica usuale che si trova in tutti i trattati di sierodiagnostica (vedi VIGANÒ), e con permanenza per un certo tempo (da ½ ora a due o tre ore per le reazioni con emazie, da qualche ora a 24 ore per le agglutinazioni batteriche) a 37° C. e poi, eventualmente, per un ulteriore e più lungo tempo all'ambiente o in ghiacciaia.

Per le precipitine, si procurava di avere liquidi limpidi il più possibile, aiutandoci con la centrifugazione; la reazione si faceva poi col metodo zonale dell'ASCOLI.

L'agglutinazione si fece, nelle ricerche del VIGLIANO, anche in goccia pendente; nelle altre macroscopica, nelle solite provettine, e senza impiegare l'agglutinoscopio. Anche per essa ci si servì di soluzione clorurosodica, in luogo della cloruropotassica o della saccarosata; e s'impiegò il termostato a 37° C., contrariamente a ciò che faceva da principio il CAPPELLETTI, che però da ultimo ebbe a constatare che tale temperatura era più favorevole di quella ambiente ad una rapida agglutinazione col succo di tubercoli delle leguminose. Le sospensioni batteriche furono, spesso, quelle lattosate e fenicate dette « *sierodiagnostici* » dell'Istituto Sieroterapico Milanese: ma in parecchie esperienze, invece, per eliminare le eventuali azioni dannose degli antisettici, tanto come *antigeni* quanto come reattivi s'impiegarono sospensioni batteriche uccise per riscaldamento a 60° C., e poi infialettate senza aggiunta di fenolo o d'altro.

Quando poi si trattava di germi non patogeni per l'uomo (*B. aterrimus*, etc.) l'agglutinazione si fece con sospensioni dei microbi vivi.

⁂

Nel testo e nelle tabelle, per semplificare l'esposizione, abbiamo rappresentato le varie modalità di tecnica fin qui esposte con lettere e cifre simboliche, che qui raccogliamo.

I) Ramo reciso; II) Pianta integra; III) Estratto acquoso di foglie; [III-*a*) raccolte da ramo reciso; III-*b*) raccolte da pianta integra].

A) Applicazione del tubo a *T*, aspirazione con *ramo pompante*, senza tubo a mercurio [*A'*) *ramo pompante* omogeneo col *ramo* *inferiore,* cioè gelso su gelso, ecc.; *A''*) *ramo pompante* eterogeneo, cioè lauroceraso su gelso, ecc.];

B) come *A*, ma con tubo pieno d'acqua, e pescante in una vaschetta con mercurio;

C) tubo a *T* con molta acqua, aspirazione con pompa, con tubo a mercurio;

D) come *C*, ma con poca acqua nel tubo a *T*;

E) come *D*, ma senza tubo a mercurio.

OPERE CITATE

Pag.

118 – Strasburger E., Fitting H., Jost L., Schenk H. e Karsten G., *Trattato di Botanica.* — Terza ediz., vol. I — (Milano, Società Editrice Libraria, 1921).

– Montemartini L., *Alcuni recenti lavori sopra il funzionamento delle vie acquifere delle piante.* — Recensione critica. (Malpighia, 1917).

– Montemartini L., *Sopra la circolazione delle sostanze minerali nelle foglie di « Ficus carica » L. e di altre piante munite di sistema laticifero* (Atti del R. Istituto Botanico dell'Università di Pavia, 1925).

– Montemartini L., *Alcune esperienze di incisione anulare sopra « Syringa vulgaris »* (Rendiconto del R. Istituto Lombardo di Scienze e Lettere, vol. LVIII, 1925).

119 – Müller A., *Die innere Therapie der Pflanzen* (Berlin, Parey, 1926).

120 – Bose J. C., *Physiologie de l'Ascension de la Sève* (Gauthier-Villars, Paris, 1927).

122 – Vaccari L., *Gli esseri viventi* (Torino, Lattes, 1929).

– Bose J. C., *Réaction de la matière vivante et non vivante* (Gauthier-Villars, Paris, 1927).

– Bose J. C., *Physiologie de la Photosynthèse.* — Trad. J. et M. Dufrenoy. (Gauthier-Villars, Paris, 1927).

– Bose J. C., *Électrophysiologie comparée* (Gauthier-Villars, Paris, 1928).

123 – Müller (vedi pag. **119**).

133 – Carbone e Arnaudi, *Ancora sulle reazioni immunitarie delle piante* (Atti della Società Italiana di Scienze Naturali, vol. LXIII, 1925, pag. 351).

– Carbone, *Risultati degli studi sulle reazioni immunitarie delle piante* (Bullettino della Società Botanica Italiana, marzo-aprile 1925).

134 – Rusconi A., *L'emolisi, come mezzo analitico per la ricerca della saponina nella birra, nelle acque gazose e nei vini* (Bollettino della Società Medico-Chirurgica di Pavia, 4 febbraio 1910).

– Rusconi A., *Sul fattore antiemolitico dei vini* (Bollettino della Società Medico-chirurgica di Pavia, 11 marzo 1911).

– Maggiora A. e Ferron D., *Potere antiemolitico delle foglie di the* (Bollettino dell'Accademia Medica di Padova, anno accademico 1913-14, fasc. VIII, pag. 35).

– Kritchewsky I. L., *Hemolisins of Vegetable Origin* (The Journal of Experimental Medicine, november 1, 1917).

Pag.

135 – Vigliano I., *Sulla presenza nelle piante di sostanze agglutinanti, precipitanti, emolizzanti ed antiemolitiche* (Bollettino dell'Istituto Sieroterapico Milanese, agosto 1922).

136 – Marcusson-Begun H., *Untersuchungen über das Hämagglutinin der Kartoffelknolle* (Zeitschrift für Immunitätsforschung, vol. 45, 1926, pag. 49).

137 – Arnaudi, *Sopra uno pseudoambocettore emolitico del gelso* (Boll. Ist. Sieroterapico Milanese, dicembre 1925).

149 – Bory L., *Les phénomènes de déstruction cellulaire* (Paris, Masson, 1922).

151 – Pettinari V., *L'*Amanita ampla *Pers. e la* Volvaria gloiocephala *Fr. (Syn. Dec.) dal punto di vista tossicologico* (Atti della Soc. Ital. di Scienze Naturali, vol. LXIV, 1925, pag. 29).

– Ferri G., *I veleni dei funghi svelati mediante i metodi sperimentali e biologici. Riabilitazione di funghi già considerati velenosi o sospetti* (Atti della Società Italiana di Scienze Naturali, vol. LXIV, 1925, pag. 35).

152 – Marcusson-Begun (vedi pag. **136**).

– Eisler M. e Portheim L., *Weitere Untersuchungen über Hämagglutinine in Pflanzen* (Zeitschrift für Immunitätsforschung, vol. 47, 1926, pag. 59).

– Rusconi A., (vedi pag. **134**).

153 – Ciuffo G., *Sulla presenza di sostanze difensive cellulari nelle culture di difterite* (Archivio di Farmacologia Sperimentale e Scienze Affini, vol. IV, 1905, fasc. VII-VIII).

154 – Eisler e Portheim (vedi pag. **152**).

– Vigliano (vedi pag. **135**).

– Carbone D. e Arnaudi C., *Nuove esperienze sulle reazioni immunitarie delle piante* (Atti della Società Italiana di Scienze Naturali, vol. LXIII, 1924).

– Carbone e Arnaudi (vedi pag. **133**).

– Kritschewsky I. L., *Ueber die Eigenschaften bakterieller Agglutinine und Präzipitine vegetabilischer Herkunft* (Zeitschrift für Immunitätsforschung, vol. 23, 1914, pag. 331).

– Kritschewsky I. L., *Ueber bakterielle Agglutinine und Präcipitine vegetabilischer Herkunft in Zusammenhange mit der Frage über die Fähigkeit der Pflanzen, Immunitätskörper zu produzieren* (Zeitschrift für Immunitätsforschung, vol. 22, 1914, pag. 381).

– Kořinek J., *Au sujet des agglutinines spécifiques chez les végétaux* (Pubblications de la Faculté des Sciences de l'Université Charles, Praha, 1924, čislo 10).

155 – Viganò L., *Tecnica Sierologica* (Ist. Sieroterapico Milanese, 1926).

– Kritschewsky (vedi pag. **154**).

158 – Kritschewsky (vedi pag. **154**).

– Rusconi A., *Intorno alla esistenza di un albumincide nelle urine normali* (Archivio di Farmacologia sperimentale e scienze affini, vol. VIII, 1909).

Pag.

169 – Picado, *Anticorps expérimentaux chez les végétaux* (Ann. Inst. Pasteur, 1921, pag. 893).

171 – Doussain L., *Considérations sur l'immunité des végétaux* (Revue de Pathologie comparée, vol. 25, 1925, pag. 73).

– Kořinek (vedi pag. **154**).

– Wagner, *Ueber bakterizide Stoffe in gesunden und kranken Pflanzen* (Centralbl. f. Bakt., vol. XLII, 1915, pag. 613).

– Rodriguez Sardiña J., *Zur Frage der Antikörperbildung bei Pflanzen* (Angewandte Botanik, vol. VIII, 1926, pag. 289).

– Schiff-Giorgini, *Untersuchungen über die Tuberkelkrankheit des Oelbaumes* (Centralblatt für Bakt., II Abt., vol. XV, 1906, p. 200).

– Carbone D. e França C., *Esperienze col « Drosophyllum lusitanicum » Link* (Atti della Società Lombarda di Scienze Mediche e Biologiche, vol. XII, fasc. 4, 1923).

174 – Kořinek J., *Intoxication par les microbes saprophytes chez les végétaux* (« Preslia », Praha, 1922).

– Kořinek (vedi pag. **154**).

– França C., *Recherches sur le « Drosophyllum lusitanicum » Link et remarques sur les plantes carnivores* (Archives portugaise des Sciences Biologiques, vol. I, 1922).

– França C., *Recherches sur les plantes carnivores.* — II. *L'Utricularia vulgaris.* — III. *La question des plantes carnivores dans le passé et dans le present* (Bol. da Soc. Broteriana, vol. I, II serie, Coimbra, 1922).

175 – Cappelletti C., *Reazioni immunitarie nei tubercoli radicali delle leguminose* (Giornale di Biologia e Medicina Sperimentale, vol. I, n. 6, 1923).

– Cappelletti C., *Reazioni immunitarie nei tubercoli radicali di leguminose* (Annali di Botanica, vol. XVI, 1924, fasc. 2).

– Cappelletti C., *La forma a bacteroide e l'immunità nelle leguminose* (Rendiconti della R. Accademia Nazionale dei Lincei, classe di scienze fisiche, matematiche e naturali. vol. IV, serie VI, dicembre 1926, pag. 533).

– Cappelletti C., *I tubercoli radicali delle leguminose considerati nei loro rapporti immunitari e morfologici* (Annali di Botanica, volume XVII, fasc. 5, 1928)

181 – Venturelli G., *L'agglutinazione nel gruppo del « Bacillus asterosporus »* (Bollettino dell'Ist. Sierot. Milanese, ottobre 1921).

183 – Picado (vedi pag. **169**).

– (nota) – Kostoff D., *Acquired immunityinplants* (Genetics, gennaio 1929, pag. 37).

– Moritz O., *Weitere Beiträge zur Kritik und zum Ausbau phytoserologischer Methodik* (Planta, vol. 7, fasc. 5, 24 maggio 1929, pagina 759).

188 – Carbone e França (vedi pag. **171**).

– Picado (vedi pag. **169**).

– Schiff-Giorgini (vedi pag. **171**).

Pag.

188 – WAGNER (vedi pag. **171**).

189 – CIAMICIAN G. e RAVENNA C., *Sul contegno di alcune sostanze organiche nei vegetali* (Gazzetta chimica italiana, anno XLVIII, parte I, pag. 253, 1918).

190 – HURSH C. R., *Sur la toxicité des milieux de culture des champignons phytopathogènes vis-à-vis des plantes* (Revue de Pathologie végétale et d'entomologie agricole, vol. XII, 1925).

– SANTORI F., *Le piante, i veleni nervosi e i veleni batterici* (Rinnovamento Medico, anno II, n. 9, 1925).

191 – WAGNER (vedi pag. **171**).

– KOŘINEK (vedi pag **154**).

192 – CAPPELLETTI C. (vedi pag. **175**).

– RODRIGUEZ-SARDIÑA (vedi pag. **171**).

193 – CAPPELLETTI C. (vedi pag. **175**).

194 – MUNERATI e MEZZADROLI, *L'impiego del refrattometro nell'esame individuale delle bietole* (Le Stazioni Sperimentali Agrarie Italiane, vol. 55, 1922, pag. 163).

200-201 – BOSE (vedi pag. **120**).

203 – MÜLLER (vedi pag. **119**).

204 – *La scoperta Perosino e le sue applicazioni contro i parassiti animali delle piante e specialmente contro la « Phylloxera vastatrix »* (Torino, Gerbone, 1899).

205 – RUSCONI A. (vedi pag. **134**).

206 – VIGANÒ L. (vedi pag. **155**).

– CAPPELLETTI (vedi pag. **175**).

CAPITOLO V.

LA FITOIMMUNITÀ NELLA PRATICA.

CARLO ARNAUDI.

Prima di terminare questo nostro studio sulla immunità dei vegetali, crediamo utile fare un breve cenno sulle applicazioni pratiche che le nozioni acquisite fino ad ora hanno permesso.

Dico subito che si tratta di quel complesso di operazioni che si concludono nell'opera miglioratrice delle piante ad opera dei genetisti.

Contro le malattie infettive che colpiscono gli esseri viventi, l'uomo può infatti agire con criteri e metodi diversi, a seconda che si tratti di sè stesso, degli animali o delle piante. Oltre alle azioni curative specifiche ed aspecifiche che sono comuni ai tre gruppi di viventi, si può esercitare un'azione indiretta e preventiva, nel senso più assoluto della parola, cercando di modificare la resistenza naturale degli organismi suscettibili, mediante un irrobustimento generale, ovverosia praticando un vero e proprio miglioramento genetico della razza.

Come è logico, questo metodo è per lievissima parte applicabile all'uomo per ovvie ragioni morali. Oggidì non è più concepibile l'azione selettiva usata dagli spartani sulle creature umane, ed anzi, con la propaganda demografica e l'assistenza sociale all'infanzia, si tende ad aumentare gli individui ed a proteggerli con ogni mezzo, senza distinzione tra robusti e deboli, ma con particolare attenzione per questi ultimi.

Negli animali invece, l'opera miglioratrice della razza si svolge con notevole intensità, e poichè il criterio economico è quello che guida l'opera dell'allevatore, si sacrifica sovente l'animale quando la cura di una particolare forma morbosa sia troppo costosa e perciò non sufficientemente rimunerativa. In zootecnia hanno quindi larghissima applicazione la selezione di razze particolarmente robuste (quando ciò non contrasti con altre qualità desiderabili del bestiame) e l'applicazione di cure preventive quali le vaccinazioni.

Nelle piante infine, salvo pochi casi, la cura della malattia in atto o non è possibile o sarebbe economicamente disastrosa, cosicchè la lotta contro le forme infettive che le colpiscono si svolge, e più si svolgerà in avvenire, attraverso la ricerca di varietà più resistenti alle malattie stesse. A questo compito di così grande importanza pratica è chiamato uno dei rami più moderni della Biologia sperimentale ovverossia la Genetica.

Questa Scienza studia le leggi della eredità e le variazioni che naturalmente o in seguito all'attività umana possono presentare piante ed animali. L'importanza pratica di questa scienza è indubbiamente pari se non superiore al contributo teorico che ha portato nella conoscenza dei più intimi e delicati fenomeni biologici.

Già negli scritti degli antichi autori greci, latini ed arabi troviamo tracce chiarissime di una pratica miglioratrice applicata alle specie domestiche di animali e piante e la applicazione, per quanto empirica, di sani concetti di selezione artificiale si può osservare in ogni tempo nei paesi volta a volta in più avanzato grado di civiltà.

Ma la vera fase scientifica non poteva sorgere che da speculazioni di pura Scienza, come infatti avvenne dopo la gigantesca opera degli evoluzionisti del secolo scorso, principalmente ad opera di LAMARCK, DARWIN, WALLACE e della loro numerosa scuola. Posta in dubbio dapprima, dimostrata erronea poi, la nozione della fissità della specie, i biologi di quel tempo s'accanirono nello studio delle leggi delle variazioni; onde si aprì un periodo splendido per le scienze naturali, che vivificate dall'introduzione del metodo sperimentale — che aveva già dato tanti risultati nelle scienze fisiche — acquistavano un carattere dinamico e speculativo in luogo dell'arido e statico metodo descrittivo che le aveva fino allora caratterizzate.

Non è qui il luogo neppure per un cenno sui successivi sviluppi delle teorie evoluzioniste, nè sul contributo grandissimo che esse portarono con la loro luce interpretativa ai più svariati fenomeni biologici. Certo permearono di sè non solo le scienze biologiche e naturali, ma ogni branca dell'umano sapere, tanto che qualche troppo zelante sostenitore recò loro nocumento, con generalizzazioni ed interpretazioni eccessive e fuori luogo. Ciò ha forse contribuito al fatto che oggi in qualche paese, pur evolutissimo per moderna organizzazione economica, si sia posto il bando al principale fondatore dell'evoluzionismo, il che non toglie che nello stesso paese si seguano largamente e con vivo successo metodi e principî che nella dottrina dell'evoluzione hanno le loro basi scientifiche.

Ma se la moderna scienza genetica è derivazione diretta delle dottrine evoluzioniste, essa ha pure ricevuto successivamente uno slancio novello dalla scoperta dell'abate MENDEL delle leggi dell'ibridazione, ed è andata allargando le proprie basi teoriche con i contributi di WEISMANN, DE VRIES, JORDAN e NILSON con le rispettive teorie particolari, per non ricordare che alcuni tra i principali nomi.

Nel campo vegetale naturalmente, la genetica sperimentale si è occupata di agire sulle piante coltivate onde ottenere un maggiore e migliore prodotto, sia migliorando le caratteristiche morfologiche proprie della pianta, sia rendendole più resistenti alle malattie. Non poche volte anzi, per malattie di singolare gravità, il fatto della maggiore resistenza costituisce da solo tutta l'opera miglioratrice della pianta.

Nella pratica, i genetisti si sono divisi in scuole diverse facenti capo a due categorie principali: i selezionatori e gli ibridatori a seconda che essi si ispirino alle varie scuole dei moderni evoluzionisti.

Gli ibridatori non pervengono a forme nuove operando su una data forma di partenza, ma semplicemente provocano combinazioni di forme nuove, mediante una fecondazione incrociata che, per quanto con minore intensità, si riscontra anche in natura.

L'opera dello selezionatore invece è varia. Se si opera su varietà a fecondazione autogena, il genetista procede speditamente nella scelta degli esemplari da riprodurre a seconda delle particolarità morfologiche che lo interessano. Se invece agisce su varietà a fecondazione incrociata, la tecnica dell'operazione si complica con le precauzioni, varie da specie a specie, che si devono prendere per proteggere le piante in selezione dalla fecondazione incrociata naturale alla quale sarebbero esposte.

Alcuni genetisti ancora, seguono un metodo eclettico usando delle ibridazioni e della successiva selezione.

I criteri ed i metodi variano, d'altro canto, a seconda delle specie sulle quali si deve operare. Nei cereali, ad esempio, la innata resistenza o predisposizione a particolari malattie, è per solito saldamente tramandata per eredità. Varietà di frumenti come il *Triticum monococcum*, alcune varietà di *Triticum dicoccum*, talune di orzi nudi immuni dall'*Erysiphe* esistevano migliaia di anni fa, e non hanno perso la loro immunità. Se è innegabile che una lentissima e secolare azione dell'ambiente possa mutare questi caratteri, tuttavia in pratica essi si possono considerare quasi immutabili e si può quindi usare di essi negli incroci per metterli a profitto di varietà aventi altri pregi.

Incrociando varietà immuni e resistenti tra di loro, i prodotti che si ottengono hanno per solito uno dei due caratteri come dominante, e dall'autofecondazione si ottengono ceppi che presentano i due caratteri disgiunti secondo le leggi di MENDEL. Tutti gli altri caratteri morfologici sono per lo più identici.

Tenendo presente l'individualità del parassita ed il suo grado di specializzazione, dal quale come si è detto dipende la possibilità di trovare specie immuni, e d'altro canto l'individualità delle varietà delle piante tra le quali si cercano le più resistenti (e per le quali la distanza genetica è proporzionale alla facilità di riuscita), il genetista può raggiungere il suo intento. Così per via selettiva come per ibridazione e successiva selezione, si svolge l'opera miglioratrice delle piante coltivate.

Ne consegue praticamente che gli studi di genetica vegetale applicati al miglioramento delle piante agrarie, hanno potuto rendere segnalati servigi all'agricoltura, selezionando varietà resistenti alle più gravi malattie, pur tenendo presenti tutte le altre proprietà morfologiche e fisiologiche che interessano economicamente.

La genetica applicata alla fitopatologia può avere talvolta anche come scopo immediato una più esatta determinazione della posizione sistematica e delle proprietà patogene dei parassiti. Caso tipico ne è lo studio delle ruggini del frumento. Abbiamo già visto precedentemente come uno dei fatti più salienti messi in luce da questi studi sia quello dell'esistenza di varie forme biologiche della stessa ruggine.

La specificità del parassitismo di queste forme ha fornito il mezzo di praticarne la selezione su ospiti diversi. Come risultato se ne ebbe ad un tempo una maggiore chiarezza nella posizione genetica del parassita, e una miglior nozione sulla resistenza di alcune varietà di frumenti coltivati in zone diverse. La quale resistenza talvolta è solo apparente, data l'assenza nella località stessa della particolare forma specializzata di ruggine. Questi studi rappresentano solo le ricerche preliminari e preparatorie all'opera di reale miglioramento che il genetista deve svolgere, ma sono indispensabili evidentemente al razionale inquadramento del problema sperimentale.

Sono questi, per sommi capi, i principî sui quali la genetica si basa per utilizzare i dati della fitoimmunità congenita, ai fini pratici del miglioramento delle varietà di piante coltivate. Quali potrebbero essere le eventuali applicazioni della immunità acquisita? I risultati fino ad ora raccolti non sono certo sufficienti per ispirare e guidare il selezionatore di piante. Troppe sono ancora le lacune nella stessa tecnica immunizzante per azzardare uno schema di esperimenti in questo senso. Però i dati di cui si dispone, mi pare siano sufficienti per pensare ad una loro utilizzazione nel campo pratico in un non lontano avvenire. Nelle pagine precedenti abbiamo visto come talvolta il meccanismo dell'immunità acquisita, o meglio alcuni fenomeni che lo accompagnano, ricordino quelli che caratterizzano l'immunità naturale; si potrebbe perciò pensare ad un rafforzamento artificiale della resistenza congenita in piante suscettibili e particolarmente pregiate per qualche loro proprietà morfologica.

Sappiamo dalla pratica come sovente si abbiano varietà di piante che, risultato di pazienti selezioni, sono bensì preziose per il loro prodotto, ma anche molto più facilmente suscettibili alle malattie delle varietà rustiche. In questi casi il miglioramento della varietà dal punto di vista *prodotto* è andato tutto a detrimento della robustezza e della resistenza ai parassiti.

Sono questi i casi più complicati e più difficili che deve affrontare il genetista, giacchè nella scelta dei caratteri morfologici che gli devono indicare l'attitudine alla produzione desiderata, deve accoppiare e scegliere quelli che gli rappresentino almeno una minore suscettibilità. Ora in questi casi, non sarà possibile soccorrere l'irrobustimento con una immunità acquisita?

Pur non escludendo che in certi casi si possa praticare una vaccinazione degli embrioni o delle giovani piantine, che, fatta ad esempio in vivaio e per innaffio, non sarebbe un'operazione nè complicata, nè difficile, tuttavia penso che un problema pregiudiziale debba ancora essere risolto prima che i genetisti e gli allevatori possano profittare praticamente della immunità acquisita. Occorre cioè risolvere il problema della durata dell'immunità acquisita e quello della permanenza dello stato immunitario in piante riprodotte per talea.

È ovvio che se questi problemi fossero favorevolmente risolti si porgerebbero alla pratica delle possibilità notevolissime. E non soltanto alla pratica del genetista e dell'allevatore di piante da riproduzione, ma allo stesso agricoltore; basta pensare alle applicazioni che se ne potrebbero fare in viticultura e in frutticoltura.

Se tutto ciò è ancora programma futuro ed ipotetico, credo invece che almeno una parte delle nostre cognizioni sull'immunità acquisita potrebbe trovare una non lontana applicazione. In floricoltura si ha spesso a che fare con piante preziose economicamente (è questa una condizione indispensabile sia pure di fronte alla lieve spesa del trattamento) e di breve ciclo d'accrescimento per le quali la durata dell'immunità constatata sinora nell'esperienza di laboratorio potrebbe essere sufficiente.

Scegliendo opportunamente le forme parassite, quelle per esempio che intaccano le radici ed i fusticini, dovrebbe essere facile operare una immunizzazione preventiva dei semi o delle giovani piantine, sia per assorbimento sia per innaffio. In questo campo credo che non dovrebbe essere difficile una larga sperimentazione e forse le prime pratiche utilizzazioni dell'immunità acquisita.

E non si dica che lo stato immunitario fino ad ora constatato è di troppo breve durata perchè possa avere utile applicazione. Sappiamo infatti che spesso le forme morbose che attaccano le piante coltivate sono legate all'età della pianta ed allo stato del suo sviluppo. Altre volte sono in dipendenza diretta dell'andamento stagionale, per cui la possibile protezione anche per un breve periodo, quando l'epoca della vaccinazione e della semina fosse opportunamente scelta, potrebbe già essere sufficiente per proteggere efficacemente le piante.

Dalla ricerca scientifica pura si deve attendere finalmente di conoscere se un eventuale grado d'immunità acquisita sia trasmissibile per seme, chè se si dovesse avere un esito affermativo, allora le possibilità pratiche sarebbero davvero innumerevoli ed importantissime.

Buona parte di queste considerazioni pratiche sono ancora basate su ipotesi, ma ho voluto egualmente ricordarle non fosse altro per giustificare questi studi teorici rispetto a quegli studiosi che non apprezzano se non le ricerche che hanno una diretta applicazione alla pratica e per dimostrare d'altro canto, come delle ricerche che sono di per sè stesse così suggestive, possano avere un valore ed un'importanza non indifferente per la tecnica agraria.

OPERE CITATE

Pag.

214 – LAMARCK G. B., *Phylosophie zoologique* (Paris, 1873).
– DARWIN C. R., *L'origine della specie* (Milano, Casa ed. sociale, 1924).
– DARWIN C. R., *Variazioni delle piante e degli animali allo stato domestico* (U.T.E.T., Torino, 1887).

215 – DE VRIES H., *Specie e Varietà e loro origine per mutazione* (Milano, Sandron).
– DE VRIES H., *L'évolution des êtres par sauts brusques* (Bologna, Zanichelli, 1916).
– CANESTRINI G., *La teoria dell'Evoluzione*. Nuova ristampa con prefazione di C. ARNAUDI (Milano, Ed. Monanni, 1924).
– TODARO F., *Il miglioramento di razza delle piante agrarie* (Casale Monferrato, Marescalchi, 1928).

CONCLUSIONE

CONCLUSIONE.

DOMENICO CARBONE e CARLO ARNAUDI

« Non esiste — scriveva J. C. BOSE fin dal 1906 (1) — reazione « fisiologica data dai tessuti animali di organizzazione più elevata, « che non si riscontri anche nella pianta. Questo fatto è stato dimo- « strato in dettaglio con la somiglianza degli effetti provocati dai veleni « sui tessuti animali e su quelli vegetali. L'identità tra gli effetti, « cioè tra le reazioni della pianta e quelle dell'animale, è tanto pro- « fonda e tanto estesa, che si può ritenere *a priori* che parecchi dei pro- « blemi oscuri della fisiologia animale abbiano già trovata una delu- « cidazione a mezzo di tali recerche eseguite sulle piante, e che altri « potranno venire spiegati con mezzi simili nel prossimo futuro ».

Le nozioni finora acquisite sull'immunità nelle piante, possono addursi a conferma di queste asserzioni del biologo indiano?

Una recisa risposta, tanto affermativa quanto negativa, non ci sembra si possa ancor dare con sicurezza. Gli studî sulla fitoimmunità e specialmente su alcuni punti essenziali di essa, sono ancor pochi, poco sistematici, ricchi di incertezze e di lacune; che potranno essere eliminate soltanto da una larga, obiettiva, accurata sperimentazione, della quale appena si cominciano a travedere gli inizi nella più recente letteratura. Troppi sono tutt'ora i temi di lavoro ancor vergini, o appena delibati: e qui accenneremo solo a quelli, che scaturiscono a prima vista da questo nostro lavoro di sintesi e d'inquadramento delle ricerche nostre ed altrui.

---

(1) Mechanism of Plant response (Londra, Longmans, Green and Co.).

Già nel campo zooimmunitario, dovranno anzitutto essere maggiormente allargati e meglio approfonditi gli studi sulle reazioni immunitarie degli animali inferiori, le quali, e *a priori*, ed anche per ciò che finora se ne sa, hanno maggiori probabilità di accostarsi a quelle delle piante, e di fare, diremo così, da ponte tra queste ultime e quelle — più note sebbene pur esse ricche tuttora d'incognite — degli animali superiori.

Anche nel meglio noto tra i capitoli della fitoimmunità — vogliamo dire, nell'immunità congenita — molto vi è ancora da fare per meglio indagarne gl'intimi meccanismi, e per ricercare le analogie, certamente esistenti, tra questi meccanismi e quelli della fitoimmunità acquisita. E qui ci si affacciano problemi anche su particolari più minuti, come quello dell'importanza, luogo di formazione, meccanismo d'azione dei fitoormoni, già toccato dagli AA. quanto basta per dimostrarne l'esistenza, ma aperto ancora a ben più vaste indagini; e l'altro della effettiva origine della sostanza microbicida dei bulbi d'orchidee, per la quale, anche ammettendola preformata nel bulbo, resta a discutersi se dipenda o meno da un previo — e sia pur vano — attacco di questo da parte della muffa nel terreno (nel qual caso si rientrerebbe nell'immunità acquisita) o se invece sia primitivamente contenuta nel bulbo, come sostanza difensiva naturale e congenita. E ancora, sempre nel campo della fitoimmunità congenita, v'è il problema di quella che abbiamo chiamata « reazione pigmentaria », della quale si dovrebbero studiare tanto il grado effettivo d'analogia con la formazione di pigmenti sia nella digestione da piante carnivore, sia in alcune reazioni zooimmunitarie particolarmente evidenti negli insetti, quanto gli eventuali rapporti con la già nota formazione di macchie oscure nelle piante parassitate in natura. Nè si dimentichi che a questo problema si collega l'altro, dell'effettiva funzione delle ossidasi, così largamente rappresentate nei succhi vegetali: funzione che, come già si è detto, da parecchi anni uno di noi ha supposto, piuttosto che respiratoria, semplicemente protettiva, in quanto è soltanto con la rottura dei tessuti che l'enzima è posto a contatto col cromogeno e con l'ossigeno ad un tempo, e dà luogo così alla formazione di sostanze oscure ed insolubili, alle quali potrebbe essere affidato il compito di proteggere contro gli agenti esterni i tessuti traumatizzati. E come pei pigmenti, si dovrà meglio indagare l'eventuale funzione difensiva di quel gruppo mal noto, ed un po' artificiale, di sostanze vegetali, al quale noi abbiamo dato il nome di *pseudoanticorpi:* sostanze delle quali si dovrà, comunque, meglio indagare la natura, l'origine, il modo d'azione.

Quasi vergine è poi il campo della fitoimmunità acquisita, attiva e passiva. Per la prima, possiamo ritenere come ormai bene accertata la sua esistenza: ma ben poco sappiamo sul meccanismo. E così dobbiamo anzitutto meglio stabilire quale sia — caso per caso e nel complesso — la tecnica più adatta per la fitovaccinazione. E poi dobbiamo chiederci se sia possibile praticare quest'ultima anche su piante più o meno adulte o comunque su piante legnose; se la si possa, in tal caso, ripetere più volte, e se con ciò se ne possa prolungare o rafforzare l'azione; se, e fino a che punto, essa sia specifica; se sia trasmissibile, sia nella riproduzione per talee, sia in quella per semi, che troverebbe un'analogia nella trasmissibilità ereditaria dell'immunità negli insetti (*Galleria mellonella*). Ancor più ristrette sono poi le nostre cognizioni sul meccanismo di questo tipo di fitoimmunità. Di che natura sono le sostanze vaccinanti ? L'aumento di resistenza delle piante trattate è realmente un fenomeno immunitario, o è legato — in qualche modo tuttora ignoto — semplicemente al fatto che le piante abbiano superato, nei primi tempi di vita, un periodo di sofferenza ? Quest'ultima ipotesi è poco probabile, ed ha contro di sè i dati sperimentali finora acquisiti in argomento: ma è pur doveroso pòrsela, ed affrontarla sperimentalmente.

Le indagini sulla fitoimmunità passiva si riducono, per ora, alle poche nostre esperienze sulla sieroterapia dei tumori da *B. tumefaciens*. In vista dei risultati positivi di esse è però necessario allargarle ed approfondirle sia ripetendo il già fatto su scala più vasta, sia estendendole ad altre coppie di piante ospiti e parassiti. E poi occorrerà anche vedere se l'assorbimento dei succhi delle piante vaccinate abbia sulle piante pur esso — come quello degli immunsieri — un'azione preventiva e curativa.

Pei fattori umorali dell'immunità, noi abbiamo concluso che la formazione di anticorpi e specialmente la loro presenza nella linfa, non può darsi per dimostrata, ma non può neppure essere esclusa con certezza: e che comunque, l'inesistenza degli anticorpi appartenenti ai tipi finora noti nella zooimmunità non sarebbe ancora sufficiente per escludere altri eventuali fattori umorali, agenti con meccanismo tuttora sconosciuto. Questa incertezza deriva, e dalla frequente presenza dei pseudoanticorpi, che per la loro saltuarietà e pseudospecificità rappresentano una temibile ed ingannevole causa d'errori e, non meno, dalle deficienze della tecnica di cui finora disponiamo per queste ricerche.

Si rammenti, infatti, che prima di noi nessuno aveva lavorato, in tal senso, sulle linfe; si ricordi che noi stessi non siamo riusciti ancora a far circolare sostanze estranee nella linfa del libro; si tenga presente che, anche per la raccolta della linfa del legno, pur avendo avuti già buoni risultati, abbiamo concluso col raccomandare un ulteriore perfezionamento nella tecnica; e sarà facile vedere quanto lavoro vi sia da fare anche qui prima di poter giungere a conclusioni ineccepibili.

Una delle reazioni la cui natura immunitaria pareva più sicura è per certo quella delle agglutinine dei tubercoli radicali delle leguminose, studiata dal CAPPELLETTI. Ma anche qui, un esame critico più approfondito ci ha ricondotti a dubitare, non dei fatti ma della loro interpretazione: e tali dubbi non potranno essere rimossi, secondo noi, che dallo *experimentum crucis* non riuscito finora a questo A., ma che non riteniamo ineseguibile, dell'infezione di piante nate sterilmente con culture pure di *B. radicicola*, e successiva prova del potere agglutinante del succo dei tubercoli sui rispettivi antigeni.

Un altro campo di lavoro certamente vasto, ed ancor quasi vergine, è quello del meccanismo di distruzione di veleni e tossine da parte delle piante, e dell'eventuale formazione di sostanze antitossiche: formazione che andrebbe posta in relazione con la spontanea esistenza di proprietà antitossiche nelle piante congenitamente resistenti, studiata, come si è detto, dal NOBÉCOURT.

Per quanto riguarda le applicazioni pratiche, molto si è fatto e si va facendo nel campo della fitoimmunità congenita; ma in quello dell'acquisita, tutto è ancora da fare. E se sarebbe fuor di luogo spingere a trasportare nel campo ciò che ancora abbisogna di molto lavoro di laboratorio, questo non ci impedisce di suggerire a quello spirito pratico, che giustamente informa l'opera dei biologi agrari, di esplicarsi anche nella scelta delle coppie di piante ospiti e di microrganismi parassiti, che dovranno far da soggetto a questa sperimentazione. Finora, infatti, ci si è curati sopratutto di avere piante facili a coltivarsi rapidamente in laboratorio, e parassiti atti a svilupparsi nei mezzi di cultura artificiali: e ciò era giustificato dalla natura strettamente scientifica delle indagini, dirette ad accertare il fatto in sè della fitoimmunità acquisita. Ma d'ora in poi non sarà male che, pur mantenendo questo criterio per le molte ricerche teoriche a cui abbiamo accennato, si cerchi anche, da chi più vi è adatto, di accostarsi alla pratica agraria, scegliendo invece quelle coppie che hanno maggiore importanza economica.

Molte sono dunque, tuttora, le cause d'incertezza in ciò che riguarda la fitoimmunità: e vasto, di conseguenza, è il campo di lavoro che si offre agli studiosi di questa ancor giovane branca della biologia.

Ma ciò non toglie che, sulla base di fatti già bene accertati e di interpretazioni assai probabilmente vere, o vicine alla verità, già si possa delineare una serie d'analogie fra l'immunità degli animali e quella delle piante. Sono comuni, dunque, agli uni ed alle altre i seguenti fatti:

1) L'immunità è legata al fatto della vita: molti microrganismi, cioè, rispettano gli esseri dei due regni finchè questi sono viventi, e li attaccano e decompongono dopo la loro morte.

2) Vi è un'immunità congenita, primitiva; e può stabilirsi un'immunità acquisita, secondaria ad una pregressa azione del microrganismo patogeno, virulento od attenuato, o di sostanze che ne provengono.

3) L'immunità congenita fisiologica ha la sua base nella specie; i fattori dell'ambiente hanno probabilmente su di essa un'azione soltanto quantitativa, possono cioè soltanto esaltarla o deprimerla, ma non crearla.

4) Vi sono meccanismi, se non identici, assai probabilmente analoghi fra i due regni, per l'immunità congenita, come: la fagocitosi da cellule fisse (particolarmente evidente, fra gli animali, negli invertebrati ed in ispecie negli insetti); la formazione di barriere isolanti (generalmente di connettivo negli animali, di subero nelle piante); particolari deformazioni nucleari; formazione di *cellule giganti* polinucleate; e più complessi meccanismi, quali sono quelli dell'immunità da ipersensibilità, e di quel reciproco adattamento

fra ospite e parassita che permette il parassitismo non patogeno (*portatori sani*).

5) Vi è quell'attitudine di adattamento ai veleni non antigeni, a cui per gli animali si dà il nome di *mitridatismo*, e della quale ora si tende a mettere in evidenza l'analogia coll'immunità acquisita antitossica.

6) Vi è , in talune malattie, l'immunità alla superinfezione.

7) Vi sono fatti che parlano, anche nella fitoimmunità, a favore della specificità nell'immunità acquisita attiva.

8) Alcuni meccanismi sono comuni all'immunità congenita ed a quella acquisita. Per le piante, citeremo fra questi le reazioni nucleari (ZOJA) e l'azione antigerminativa dei succhi di fronte alle spore del miceto parassita (BENIGNI).

9) Oltre all'immunità acquisita attiva, anche le piante possono mostrarne una passiva, dimostrata però solo a mezzo di sieri di animali immunizzati.

Le analogie finora poste in evidenza, nell'immunità, fra animali e vegetali, vertono dunque su fatti fondamentali: tendono per ciò fin d'ora a rafforzare il concetto d'una più stretta unità nelle manifestazioni della vita nei due regni.

⁂

E con questa conclusione — sia pur circondata dalle opportune riserve — siamo giunti al termine del nostro scritto: il quale, seppure sia ricco di omissioni e di mende, noi speriamo abbia a richiamare l'attenzione degli studiosi sopra un campo di lavoro che già si promette in molti sensi fruttuoso.

Non vogliamo però chiudere, senza aver adempiuto al gradito dovere di esprimere la nostra viva gratitudine per quanti, in questi due lustri, ci hanno consigliati, sorretti, aiutati in ogni maniera; dal Direttore di questo Istituto, prof. SERAFINO BELFANTI, che in ogni modo ed in ogni senso ha sorretta e guidata l'opera nostra, al prof. LUIGI MONTEMARTINI, della cui benevolenza ci siamo largamente e ripetutamente valsi; da sir JAGADIS CHUNDER BOSE, che ha cortesemente appagato il nostro desiderio di apporre a questo libro una sua epigrafe originale ed autografa, e da quanti altri ci hanno cortesemente permesso di riprodurre in questo scritto delle figure di loro opere o — come il prof. A. Fischer — ce ne hanno favorite di originali, a tutti gli amici immunologi, agrari, botanici, fitopatologi, che in questa od in quell'occasione ci hanno dato materiali di studio, preziosi suggerimenti, od anche soltanto quelle parole d'incoraggiamento, che ci hanno indotti a persistere per la nostra non sempre facile via.

E per parte nostra ci sia dato di chiudere con l'augurio che altri, meglio di noi, questa via percorra fino all'estremo.

INDICI

INDICE ANALITICO DELLA MATERIA

A

Abrina e immunità specifica . . . 12
— pseudoprecipitine dell' — . . . 158
Accrescimento ormone di — . . . 58, 59
Acidi organici e corrente della linfa . . . 118
Acidità organica, aumento della resistenza e — . . . 48
— dei succhi di *Berberis* . . . 49
— — di *Oxalis* . . . 49
— — di *Rumex* . . . 49
— e peronospora . . . 49
— e resistenza . . . 49, 50
Acido cinnamico, aumento dell'immunità da — . . . 10
— elvellico, emolisine fungine e — . . . 151
— lattico, nella preparazione dei vaccini per vegetali . . . 102
— malico, sua azione sulla resistenza delle piante agli insetti . . . 48
— tannico e crittogame . . . 48
Acque del Gange, batteriofago delle — . . . 108
— della Senna, batteriofago delle — . . . 109
Acrostalagmus cinnabarinus, azione fungicida del succo di — . . . 53
Agenti tossici, insensibilità cellulare verso gli — . . . 15
Agglutinazione (vedi anche: Agglutinine).
— *B. radicicola* e — . . . 175, 179, 180
— da *Armillaria mellea* . . . 135
— da *Boletus* . . . 133, 135
— da *Cotyledon Scheideckeri* . . . 134
— delle emazie da cavolfiore . . . 137
— e *Lathyrus odoratus* . . . 182
— e leguminose . . . 175
— e *Lupinus albus* . . . 182
— e succo dei tubercoli del pisello . . . 182
Agglutinine (vedi anche: Agglutinazione – Pseudoanticorpi). 13, 52
— *antitumefaciens* nei gerani portatori di tumori . . . 171
— da *B. Coli* in *Phallusia mamillata* . . . 24
— dei tubercoli radicali . . . 174, 175, 178, 179, 180, 226

AGGLUTININE di *Cotyledon Scheideckeri* . . . 153
— e batteriolisine . . . 188
— e sieroterapia vegetale . . . 105, 125
— IMMUNITARIE, nei vegetali . . . 174
— in piante inoculate d'emazie . . . 169
— nei liquidi di orchidea . . . 63
— nel *Gladiolus* . . . 169
— nelle patate . . . 170
— nell'*Opuntia* . . . 171
— produzione di — in ascidie . . . 24
— proprietà delle — . . . 175
— specificità delle — dei tubercoli radicali . . . 180
ALBUME D'UOVO ed emolisi . . . 183
ALBUMINA e corrente della linfa . . . 118
ALBUMINE ETEROGENEE, eliminazione delle — . . . 9
— — neutralizzazione delle — . . . 9
ALBUMOSE, aumento della immunità da — . . . 10
ALCALOIDI, azione difensiva degli — . . . 51
ALESSINA (vedi: COMPLEMENTO).
ALIMENTAZIONE INSUFFICIENTE e recettività . . . 10
ALLEVAMENTO, modo di — e resistenza delle piante . . . 44
AMBIENTE, azione dell' — sulla *Botrytis cinerea* . . . 89
— e cellule pulsanti dei vegetali . . . 122
— e immunità congenita delle piante . . . 42
— — dei cereali . . . 42
— e malattie delle piante . . . 41
— e suscettibilità verso l'*Erysiphe graminis* . . . 43
AMBOCETTORE . . . 14
— EMOLITICO . . . 14
AMEBE, immunità da *B. Coli*, in — . . . 21
AMMANITA AMPLA,, emolisine di — . . . 151
— *PHALLOIDES*, pseudo-emolisine in — . . . 150
ANAFILASSI (vedi anche: SCHOCK ANAFILATTICO).
— definizione della — . . . 17
— e *Calla aethiopica* . . . 112
— e *Clybia minuta* . . . 112
— e immunità . . . 19, 29, 112
— e *Impatiens sultani* . . . 112
— e *Iresine herbstii* . . . 112
— e leucosina . . . 113
— e *Lilium candidum* . . . 112
— e *Mimosa pudica* . . . 112
— meccanismo dell' — . . . 18
— nei vegetali . . . 112, 113
— — esperienze di — . . . 112
— — — cause di errore e — . . . 113
— *passiva* . . . 18
ANATOSSINA DIFTERICA e *Galleria mellonella* . . . 29
ANEMIA e recettività . . . 10

ANEMIA PERNICIOSA, virus dell' —, nei cavalli . . . 8
ANILINA, colori di — e linfa del legno . . . 123
ANIMALI INFERIORI, immunità negli — . . . 19
ANTIANAFILASSI, definizione dell' — . . . 18
ANTI-ANTICORPI, formazione di — . . . 13
ANTICORPI, definizione degli — . . . 13
— culture *in vitro* ed — . . . 19, 84
— e pseudoanticorpi . . . 133, 168, 169
— e *Trifolium pratense* . . . 179
— e tubercoli radicali . . . 175, 178
— inattivazione degli — e deviazione del complemento . . . 14
— nei succhi delle piante . . . 14, 122, 123, 125, 132, 168, 190
— nel *Lathyrus* . . . 175, 176
— nell'immunità acquisita . . . 13
— — congenita . . . 25
— nel *Phaseolus vulgaris* . . . 176
— passaggio degli — animali nei vasi delle piante . . . 125
— produzione di — . . . 18
— SESSILI . . . 15
ANTIEMOLISINE (vedi anche: SOSTANZE ANTIEMOLITICHE).
— da inoculazione di emolisine . . . 188
— formazione di — . . . 13, 131 e seguenti
ANTIENZIMI . . . 13
ANTIFERMENTI, produzione di —, negli invertebrati . . . 24
— — nello scorpione . . . 24
ANTIGENI, definizione degli — . . . 13
— CELLULARI . . . 13
ANTISETTICI, nella conservazione del succo delle piante . . . 192
ANTITOSSINE . . . 13, 189, 226
ARACHIS HIPOGEA, batteriosi di — . . . 55
ARMILLARIA MELLEA, azione del succo di — sul siero di cavallo . . . 159
— — esperienze con l' — . . . 135
— — potere agglutinante della — . . . 135
— — — batterioagglutinante del succo di — . . . 154
— — — emolitico della — . . . 133, 134, 135, 136, 150
— — pseudoagglutinine di — . . . 135
ARUNDO DONAX . . . 182
ASCARIS MEGALOCEPHALA, fagocitosi in — . . . 21
ASCIDIA MENTULA (vedi: ASCIDIE).
ASCIDIE, fagocitosi in — . . . 24
— produzione di agglutinine in — . . . 24
— reazione del sangue in — . . . 24
ASCOCHYTA PISI e resistenza al marciume del pisello . . . 46
ASPARAGINA e corrente della linfa . . . 118
ASPECIFICITÀ della sostanza agglutinante dei tubercoli . . . 181
ASPERGILLUS ORIZAE e specificità della vaccinazione . . . 95, 96, 99
ASSORBIMENTO di sostanze pel legno di piante vive . . . 122, 203
— — — metodi usati . . . 203, 204
— — — tecnica per l' — . . . 204, 205

ASSUEFAZIONE DEI VEGETALI ai tossici 190
ASTRAGALUS PODOCARPUS ed enzimi proteolitici 178
AUTOAMPUTAZIONI e parassitismo 55
AVENA e recettività per il golpe 49
— — per le ruggini 49
— e resistenza alle ruggini 41
— — contro le puccinie 49
— pseudoprecipitine della — 158
— vaccinazione delle — contro il *B. putrefaciens* 80, 90
AVITAMINOSI e recettività 10
AZIONE AGGLUTINANTE, del succo delle piante 192
— BATTERIOAGGLUTINANTE (vedi anche: BATTERIOAGGLUTINAZIONE).
— — del bulbo di cipolla 154
— — del frutto di limone 154
— — del succo delle piante 154, 192
— — — di *Armillaria mellea* 154
— — — di *Opuntia* 154
— — — di patata 154
— — — di *Sempervivum Hausmanii* 154
— — — di vari vegetali 154
— ECCITANTE dei parassiti sulle piante 56
— FUNGICIDA dei succhi delle piante 53
— — del succo di *Acrostalagmus cinnabarinus* 53
— — — di *Cephalothecium roseum* 53
— — — di orchidea 65, 67
— — — di *Stysanus stemonitis* 53
— — di *Loroglossum hircinum* 67, 68
— — sull'*Orcheomyces psychodis* 66
— PRECIPITANTE del succo delle piante 192
AZOTO, SALI AZOTATI, azione sfavorevole dei — 43

B

BACHI DA SETA, vaccinazione orale nei — 29
BARBABIETOLE, tumori delle — e batteriofago 110
—, varietà resistenti alla *Cercospora beticola* 44
BARRIERE DI SUBERO (vedi: SUBERO, barriere di —).
— CELLULARI e isolamento dei parassiti 58
— CHIMICHE e parassitismo 55
— DI CRISTALLI e invasioni parassitarie 60
— DI TESSUTO LIGNIFICATO e parassiti 69
— FISICHE e parassitismo 55
BATTERIOAGGLUTINAZIONE (vedi: BATTERIOAGGLUTININE – AZIONE BATTERIOAGGLUTINANTE).
BATTERIOAGGLUTININE, della radice di carota 159
— del bulbo di cipolla 154
— del cavolo 137, 154
— del cavolfiore 137
— del *Cotyledon Scheideckeri* 134, 152, 154

BATTERIOAGGLUTININE del lauroceraso . . . 154, 171
— del gelso . . . 154
— delle cipolle . . . 137, 154, 171
— delle fave . . . 171
— delle foglie di scorzonera . . . 154
— — di sedano . . . 154
— delle patate . . . 169, 170
— del limone . . . 154
— dello spinacio . . . 154
— dello *Stachis* . . . 154
— del salice . . . 154
— del *Sempervivum Hausmanii* . . . 154
— di *Armillaria mellea* . . . 154
— di *Beta vulgaris* . . . 154, 171
— di *Cucurbita pepo* . . . 171
— di *Euphorbia erythraea* . . . 171
— — *aphylla* . . . 171
— di *Lycopersicum esculentum* . . . 171
— di *Opuntia* . . . 154, 169, 171
— di *Solanum tuberosum* . . . 171
— e *B. asterosporus* . . . 169
— — *aterrimus* . . . 169, 170, 171
— — *Coli* . . . 171
— — *lactis albus* . . . 170
— — *oleae* . . . 171
— — paratifici A e B . . . 171
— — *tuberculosis hominis* . . . 154
— — *tumefaciens* . . . 171
— — *typhi* . . . 154, 171
— e *V. cholerae as.* . . . 154, 171
— nei crostacei e nei tunicati . . . 24
— nei succhi delle piante . . . 154
— pseudospecificità delle — vegetali . . . 154
— ricerche sulle — nei vegetali . . . 169
BATTERIOFAGIA, cenni sulla — . . . 108
— vedi anche: BATTERIOFAGO).
BATTERIOFAGO, azione del — su tutti i germi . . . 109, 110
— cenni sul — . . . 108
— e acque del Gange . . . 108
— — della Senna . . . 109
— e *B. amylovorus* . . . 111
— — *atrosepticus* . . . 111
— — *carotovorus* . . . 111
— — *dissentericus* . . . 109
— — *pullorum* . . . 111
— — *radicicola* . . . 110
— — *sanguinarium* . . . 111
— — *tumefaciens* . . . 110
— — *typhi* . . . 111

BATTERIOFAGO e fitopatologia 110
— e marciume del cavolo 110
— e tubercoli delle leguminose 110
— e tumori delle barbabietole 110
— natura del — 109
— pratiche applicazioni del — 111
— presenza del — su piante sane 110
— — nei terreni 110
— specificità del — vegetale 111
— tecnica del — 110
BATTERIOLISI e leucociti 15
— EXTRACELLULARE e immunità congenita 25
BATTERIOLISINE, agglutinine e — 188
— nell'immunità congenita 25
BATTERIOSI di *Arachis hipogea* 55
B. AMYLOVORUS e batteriofago 111
B. ASTEROSPORUS batterioagglutinine delle patate e — 169
— — dosi minime letali 52
B. ATERRIMUS batterioagglutinine delle patate e — 169, 170
— — deviazione del complemento e — 189
— — e formazione di batterioagglutinine nei vegetali 171
— — e pseudoagglutinine 164, 170
B. ATROSEPTICUS e batteriofago 111
B. CAROTOVORUS e batteriofago 111
— — frutta infettate dal — 48
— — immunizzazione contro il — 97, 98, 100
— — vaccinazione della fava contro il — 89, 97, 98
B. COLI e agglutinine da — in *Phallusia mamillata* 24
— — batterioagglutinine delle *Euphorbiæ* 171
— — immunità da — in amebe 21
— — — da — in *Phallusia mamillata* 24
B. DEL CARBONCHIO 26
B. DIFTERICO, portatori del — 8
— — recettività e — 11
B. DISSENTERICI, e batteriofago 109
B. FELSINEUS e resistenza di organi diversi nelle piante 34
B. GALLERIAE 25
B. LACTIS ALBUS e batterioagglutinine delle patate 170
B. MELOLONTHAE 29
B. MESENTERICUS, vaccinazione della patata contro il — . 89, 92, 93, 94
B. OLEAE e batterioagglutinine 171
B. PARATIFICI A e B, batterioagglutinine delle cipolle e — 171
B. PERFRINGENS 26
B. PIOCYANEUM, emolisina del — 153
B. PRODIGIOSUM, assorbimento e distruzione di sospensioni di — nel gelso 124
B. PULLORUM e batteriofago 111
B. PUTIDUM, dose minima letale 52

B. PUTREFACIENS, vaccinazione di lupino, grano, avena, fagiolo, contro il — 89, 90
B. RADICICOLA e agglutinazione 175, 179, 180, 226
— — e batteriofago 110
— — e resistenza alla superinfezione 86
— — e *Spartium junceum* 182
— — e tubercoli radicali 178, 179, 226
B. SANGUINARIUM e batteriofago 111
B. TUBERCULOSIS HOMINIS ed azione batterio agglutinante del succo di piante 154
B. TUMEFACIENS e batterioagglutinine di *Beta vulgaris* 154, 171
— — e batteriofago 110
— — e formazione di batterioagglutinine 171
— — immunità da — nel riccio di mare 21
— — immunità acquisita passiva contro — 105, 106, 225
B. TYPHI e batteriofago 111
— — e *Cotyledon Scheideckeri* 181
— — e *Drosophyllum lusitanicum* 174
— — e formazione di batterioagglutinine nei vegetali 154, 171
— — e pseudoanticorpi 159
— — e pseudoprecipitine 158
B. VULGARIS, dose minima letale 52
BEGONIE, infettabilità delle — da *Trichothecium candidum* 51
— vaccinazione delle — contro la *Botrytis* 80, 90
BERBERIS, acidità dei succhi di — 49
— resistente alla *Puccinia graminis* 47
BETA VULGARIS e batterioagglutinine 171
— — pseudoagglutinazione in — 154
BLEPHAROSPORA CAMBIVORA, vaccinazione del pisello contro la — 89, 94, 95, 96
BOLETUS sp. potere agglutinante del 133, 135
— — emolitico del 133, 135
BOTRYTIS CINEREA, azione dell'ambiente sulla — 89
— — — della temperatura sulla — 89, 90, 102
— — — dell'umidità sulla — 89, 90, 102
— — — degli olii essenziali sulla — 51
— — — di varie sostanze vegetali sulla — 51
— — e difesa meccanica 45
— — immunizzazione contro la — 97, 98, 100
— — modo di penetrazione della — 46
— — vaccinazione delle begonie contro la — 90
— — — del fagiolo contro la — 89
— — vaccini contro la — 97, 98, 100
BRASSICA OLEOFERA, resistenza a germi vari 52

C

CALLA AETHIOPICA e anafilassi 112
CALORE (v. anche TEMPERATURA), azione del — sulle pseudoprecipitine 158

CALORE, azione del — sulle pseudoprecipitine . . . 158
— e diffusione dei parassiti . . . 42
— e resistenza delle piante . . . 42
— nella preparazione dei vaccini . . . 102, 103
CANCRO DELLE PATATE, vaccinazione contro il — . . . 91, 102
CARBONE, varietà di grano immuni verso il — . . . 33
— DEL MAIS, forme fisiologiche del — . . . 40
CARBONIO e sintesi delle sostanze organiche . . . 117
CAROTA, azione antitossica della — contro la *Sclerotinia trifolium* . . . 53
— — della — sul siero di cavallo . . . 159
— batterioagglutinine della radice di — . . . 154
— pseudoagglutinine della radice di — . . . 155
CAVOLO, azione del succo di — sul siero di cavallo . . . 159
— marciume del — e batteriofago . . . 110
— potere batterioagglutinante del — . . . 137
— sostanze batterioagglutinanti delle foglie di — . . . 154
— FIORE, potere batterioagglutinante del — . . . 137
— — ed agglutinazione delle emazie . . . 137
CELENTERATI, fagocitosi nei — . . . 28
CELLULE AMILIFERE, considerazioni sulle . . . 118
— PULSANTI e movimento della linfa . . . 121
— — fattori ambientali e — . . . 122
— DIGERENTI nella *Neottia nidus-avis* . . . 63
— DI KUPFER e fagocitosi . . . 16
— GIGANTI e fagociti . . . 17, 26
— — formazione di — dai leucociti . . . 24
— — nel *Podocarpus* . . . 69
— — nello *Psilotum* . . . 69
— — polinucleate e fagociti . . . 26
— ORTICANTI, apparato a — . . . 9
— VEGETALI ed ormone di disintegrazione . . . 58
CEPHALOTHECIUM ROSEUM, azione fungicida del succo di — . . . 53
CERCOSPORA BETICOLA, barbabietole resistenti alla — . . . 44
CEREALI, ambiente e immunità dei — . . . 42
— resistenti alle ruggini . . . 47
— — all'oidio . . . 47
— resistenza e predisposizione nei — . . . 214
— varietà immuni nei — . . . 37, 43
CHEMIOTROPISMO e *Phyllosticta* . . . 51
CHEMOTERAPIA, nei vegetali . . . 104
CICORIA, sostanze ad azione antiemolitica nella — . . . 136
CIDINE . . . 183
— e *Opuntia* . . . 183
CIGLIA VIBRATILI, protezione esercitata dalle — . . . 9
CIPOLLA, batterioagglutinine nel bulbo di — . . . 154, 171
— e pseudoprecipitine . . . 158
— tossine del succo di — . . . 53
CIRCOLAZIONE della linfa vegetale . . . 117
— della linfa del legno . . . 130

CIRCOLAZIONE della linfa del libro 122, 123
CITOLISINE 13, 14
CITOTOSSINE 13
CLYBIA MINUTA e anafilassi 112
COBRA, veleno di — (vedi: VELENO DI COBRA).
COMPLEMENTO 13, 14, 185
— DEVIAZIONE DEL —, cenni sulla — 14
— — e inattivazione degli anticorpi 14
— — e succo di patate 188
— negli umori vegetali 21
CONCIMI, azione dei — sulla resistenza delle piante 43
COTYLEDON SCHEIDECKERI, agglutinazione da — 134, 152
— agglutinine di — 153
— batterioagglutinazione in — 154
— e germi del tifo e del colera 181
— emolisine di — 151
— pseudoagglutinine di — 155, 182
— pseudoanticorpi di — 159
— pseudoemolisine di — 151
— pseudoprecipitine di — 158, 159
CRITTOGAME, acido tannico e — 48
— influenza della siccità sulle — 44
CROSTACEI, emoagglutinine e batterioagglutinine nei — 24
CROTINA, pseudoprecipitine della — 158
CRUCIFERE, infettate da *Plasmodiophora brassicae* 37
CUCURBITA PEPO e batterioagglutinine 171
CULTURE IN VITRO di cellule varie 16
— — di cellule vegetali, tecnica della — 57
— — e produzione di anticorpi 19, 84
— — e reazioni istogene ai parassiti nelle piante 56
CUTE, protezione meccanica della — 9

D

DATURA STRAMONIUM pseudoemoagglutinine di — 152
DEANAFILASSI (vedi: ANTIANAFILASSI).
DEGENERAZIONE DEL MICELIO e fagocitosi 63, 64, 65, 71
— — , significato della — 63, 69
DESMODIUM GYRANS movimenti del — 122
DEVIAZIONE DEL COMPLEMENTO (vedi: COMPLEMENTO, deviazione del —)
DIFESA MECCANICA e *Botrytis cinerea* 45
— — e immunità nelle piante 36, 42, 45, 47
— — presentata dalla fioritura 42, 45
— — prodotta dalle resine 45
DIFTERITE, immunità nella — 9, 11
— nei poppanti 9
DIGESTIONE dei microrganismi 26
— endocellulare 27
— FAGOCITARIA, cenni sulla — 26

DIGESTIONE fenomeni di —, in *Psilotum triquetrum* . . . 69
DORYCNIUM . . . 182
DROSOPHYLLUM LUSITANICUM e *B. typhi* . . . 174
— — ed emolisi . . . 188
— — formazione di pigmenti in — . . . 28
DULCAMARA, micorize della —, vaccinazione della patata contro le — . . . 89

E

EMBRIONI, vaccinazione degli — . . . 218
EMOAGGLUTINAZIONE (vedi anche: EMOAGGLUTININE).
— da foglie di lauroceraso . . . 137
— da indivia . . . 137
— da *Opuntia* . . . 137
— e patata . . . 137, 151
EMOAGGLUTININE, nei crostacei e nei tunicati . . . 24
EMOLINFA, cellule mobili dell' — e fagocitosi . . . 25
EMOLISI . . . 14, 125, 133, 134, 141, 143
— (vedi anche: EMOLISINE).
— da *Armillaria mellea* . . . 133, 134, 135, 136, 150
— da *Boletus sp.* . . . 133, 135
— *Drosophyllum lusitanicum* e — . . . 188
— e albume d'uovo . . . 183
— e patate . . . 135
— influenza della stagione sulla — . . . 142
EMOLISINE (vedi anche: EMOLISI).
— antiemolisine, da inoculazione di — . . . 188
— di *Ammanita ampla* . . . 151
— di *Cotyledon Scheideckeri* . . . 151
— di *Volvaria gloiocephala* . . . 51
— e *B. pyocianeum* . . . 153
— formazione di — . . . 141
— FUNGINE ed acido elvellico . . . 151
ENDOTELII VASALI e fagocitosi . . . 16
ENDOTOSSINE e *Galleria mellonella* . . . 25
ENZIMI, decomposizione dei tessuti da — . . . 27, 45, 46
— e parassiti . . . 55
— rapporti enzimatici fra parassita e ospite . . . 48
— CITOLITICI, loro azione sui tessuti . . . 51
— DIFENSIVI . . . 55
— VEGETALI DI ACCRESCIMENTO e ghiandole endocrine animali . . . 58
— PROTEOLITICI dei tubercoli radicali . . . 178
— — in *Astragalus podocarpus* . . . 178
— — in *Lathyrus odoratus* . . . 178
— — in *Lupinus albus* . . . 178
— — in *Phaseolus vulgaris* . . . 178
— — in *Pisum sativum* . . . 178
EOSINA, arrossamento delle foglie da assorbimento di — . . . 124
— assorbimento di — nel gelso . . . 125

EOSINA e circolazione della linfa del libro 130
— sua tossicità per le piante 123, 124
EPITELIO CORNEIFICATO, protezione esercitata dall' — 9
EREDITARIETÀ DELL'IMMUNITÀ ACQUISITA degli insetti 29, 225
— — CONGENITA nelle piante 35
— della resistenza e della predisposizione nei cereali 216
ERIKSSON, scala di — e recettività delle piante 34, 35
ERYSIPHE GRAMINIS, immunità del grano persiano verso l' — 43
— — resistenza di certi frumenti all' — 52
— — — del *Triticum monococcum* all' — 216
— — — del *Triticum dicoccum* all' — 216
— — suscettibilità verso l' — e ambiente 43
ESOTOSSINE, immunità naturale della *Galleria mellonella*, verso le — 25
ESTIRPAZIONE di organi importanti e recettività 10
ESTRATTI di organi vegetali preparazione degli — 192
ETÀ delle piante e resistenza 43
EUPHORBIA APHYLLA, e batterioagglutinine 171
— *CYPARISSIAS*, resistenza all'*Uromyces pisi* 90
— *ERYTHRAEA* e batterioagglutinine 171
EVOLUZIONISMO, cenni sull' — 214, 215
EXOASCHI, neoformazioni vegetali da — 57

F

FAGIOLO (vedi anche: *PHASEOLUS*).
— pseudoprecipitine del — 158
— vaccinazione del — contro la *Botrytis* 89
— — contro il *B. putrefaciens* 89, 90
FAGOCITI (vedi anche: FAGOCITOSI - FUNZIONE FAGOCITARIA).
— attività dei — e stimoline 16
— definizione dei — 16
— e cellule giganti 17, 26
— e digestione dei microrganismi 26
— e pigmenti 28
— funzionanti e alterazioni del nucleo 28
— — — del protoplasma 28
FAGOCITOSI (vedi: FAGOCITI).
— FUNZIONE FAGOCITARIA 9, 13, 16, 17
— cellule di Kupfer e — 16
— — delle ghiandole linfatiche e — 16
— — mobili dell'emolinfa e — 25
— difesa degli insetti con la — 71
— ed endoteli vasali 16
— e immunità congenita 25
— — parziale 65
— e leucociti 16, 22
— e metazoi 16
— e midollo osseo 16
— e vaccinazione 17

FAGOCITOSI in *Ascaris megalocephala* 21
— in ascidie 24
— negli invertebrati 22
— nei celenterati 21
— nei vegetali e degenerazione del micelio 63, 64, 65, 71
— nei vermi 21, 22
— — marini 22
— nelle spugne 21
— orchidee e — 177
FATICA e recettività 10
FATTORE ANTIEMOLITICO (vedi: SOSTANZE ANTIEMOLITICHE).
— EMOAGGLUTINANTE (vedi: EMOAGGLUTINAZIONE).
— EMOLITICO (vedi anche: EMOLISI - EMOLISINE).
— — sensibilità dei globuli al — 148, 150
— UMORALE dell'immunità e liquidi delle piante 141
FAVE e batterioagglutinine 171
— resistenti alle *Puccinie* 49
— vaccinazione delle — contro il *B. carotovorus* 89, 97, 98
FERITE DEI VEGETALI e ormone di disintegrazione 58
FILTRATI AMICROBICI ed immunità attiva 11
FIORITURA difesa meccanica presentata dalla — 42, 45
FISSAZIONE DEL COMPLEMENTO (v.: COMPLEMENTO, deviazione del —).
FITOALBUMINE e precipitazione 158
FITOIMMUNITÀ 213, 217, 223, 224
— vedi anche: IMMUNITÀ NEI VEGETALI - NELLE PIANTE).
— analogie con l'immunità degli animali 227, 228
— applicazioni pratiche della — 213, 226
— e immunità degli animali inferiori 224
— incertezze nella — 227
FITOTOSSINE, loro origine 133
FRUMENTI (vedi: GRANI).
FRUTTA infettate dal *B. carotovorus* 48
FUNGHI PARASSITI e malattie infettive delle piante 34, 84
— PATOGENI, adattamento dei — 41
— — assuefazione delle piante ai — 190
— — infezioni da — e macchie delle foglie 59
— — modo di penetrazione dei — 46, 51
— — neoformazioni delle piante da — 57
— — ostacoli meccanici alla penetrazione nei tessuti dei — . . . 45
— — sensibilità dei — 40
FUNZIONE FAGOCITARIA (vedi anche: FAGOCITI – FAGOCITOSI).
— — e metazoi 16
FUSARIUM LINI, immunità da ipersensibilità e — 72
— — varietà suscettibili di lino 33
— *OXYSPORIUM*, vaccinazione di piante varie contro il — . . . 89, 92
— *VASIFECTUM*, vaccinazione di piante varie contro il — . . . 89, 92

G

GALLE, cenni sulle — 57
GALLERIA MELLONELLA e anatossina difterica 29
— — endotossine e — 25
— — esotossine e — 25
— — e veleno di cobra 25
— — immunità nella — 25, 225
— — immunizzazione passiva della — 29
— — tossina difterica e — 25, 29, 30
GELSO, assorbimento di eosina nel — 125
— — di pseudosoluzioni colloidali nel — 123, 124
— — di sieri immuni nel — 123, 125
— — siero normale di cavallo nel — 123, 125
— — di sospensioni di *B. prodigiosum* 124
— — di sostanze coloranti nel — 123
— azione della linfa del legno del — 137, 141
— — — esperienze sull' — 14, 42, 143, 144, 188
— batterioagglutinine del — 154, 171
— potere batterioagglutinante del — 154
— pseudoambocettore emolitico del — 134, 141, 142, 143, 144
— pseudoprecipitine del — 158
GENETICA ed evoluzionismo 214
— e ibridazione 215
— e mendelismo 215
— e selezione 215
— e sistematica dei parassiti 216
— e studio delle forme parassitarie 216
— importanza della — vegetale 216
— — della — per la pratica 214
— lotta contro le malattie infettive delle piante e — 213, 214, 216
GERANÎ (vedi anche: *PELARGONIUM ZONALE*.)
— esperienze sui tumori dei — 86, 87, 88, 125, 171
— sieroterapia nei tumori dei — 125, 225
GERMINAZIONE di semi e stricnina 190
GERMI TUBERCOLIGENI e tubercoli delle leguminose 180, 181
GHIANDOLE ENDOCRINE animali ed enzimi vegetali di accrescimento. 58
— LINFATICHE; cellule delle — e fagocitosi 16
GLADIOLUS, agglutinine di — 169
GOLPE, recettività delle avene per il — 49
— — delle rose per il — 49
GRANI, difesa meccanica dei — contro la *Puccinia tritici* 46
— immuni verso le ruggini 33
— infestati da *Puccinia glumarum* 35
— PERSIANI, loro immunità verso l'*Erysiphe graminis* 43
— recettività dei — verso il golpe 49
— — verso le ruggini 43, 49
— resistenti e suscettibili, pressione osmotica e — 50

GRANI, resistenza dei — all'*Erysiphe graminis* 52
— — dei — alle *Puccinie* 49
— suscettibili alle ruggini 43, 49, 50
— — al carbone 33
— vaccinazione dei — generalità sulla — 92
— — dei — contro l'*Helminthosporium sativum* 89, 90, 91
— — dei — contro il *B. putrefaciens* 89, 90
GRANTURCHI e immunità verso l'*Ustilago maydis* 53
— — — *zeae* 44
— forme biologiche del carbone dei — 40
— pseudoprecipitine dei semi di — 158
— resistenti all'*Ustilago zeae* 44
GUAINE GHIANDOLARI e idrati di carbonio 118

H

HELMINTHOSPORIUM SATIVUM vaccinazione del grano contro l'— 89, 90, 91
HETERODERA RADICICOLA, reazioni cellulari alla 69

I

IBRIDAZIONE, cenni sull' — 215
— e genetica 215, 216
— leggi dell' — 215
ICTUS ANAFILATTICO 17
IDRATI DI CARBONIO e guaine ghiandolari 118
IDRATO DI FERRO COLLOIDALE passaggio di — nei vasi delle piante. 124
IMMUNITÀ (vedi anche FITOIMMUNITÀ)
— alla reinfezione. 98
— analogie fra — vegetale ed animale 227, 228
— aumento dell' — da albumose 10
— cenni sull' — delle piante. 34, 35, 42, 45, 47
— da *B. Coli* in *Phallusia mamillata* 24
— — — in amebe 21
— da ipersensibilità nel *Fusarium lini* 72
— da *B. tumefaciens* in riccio di mare 21
— definizione dell' — 8
— dei cereali ed ambiente 42
— dei granturchi verso l'*Ustilago maydis* 44, 53
— di certi grani verso il carbone. 33
— — — verso le ruggini 31
— difese meccaniche dei vegetali e — 36, 42, 45, 47
— distribuzione dell'— nelle piante 41
— e acido cinnamico 110
— e anafilassi 19, 29, 112
— ed ipersensibilità 72
— e nucleina 10
— e pilocarpina 10
— e potere osmotico 50

IMMUNITÀ e reazioni istogene dei vegetali 36, 54, 59, 61
— — umorali dei vegetali 36, 54, 59, 61, 84
— e resistenza meccanica 47
— e simbiosi 61
— fattori diversi dell'— 47
— — istogeni dell'— 18
— — umorali dell'— 18, 88, 117, 191, 225
— fenomeni di — acquisita riscontrati nella letteratura 89
— natura dell' — 18
— negli animali inferiori 19
— negli invertebrati 21
— nei protozoi 19
— nei vermi superiori 21
— nella difterite 9, 11
— nella *Galleria mellonella* 25
— nell'embrione di riccio di mare 21
— reazioni istogene dei tessuti e — 36
— sostanze cellulari ed intercellulari vegetali e — 36
— ACQUISITA, anticorpi nell'— 13
— — applicazioni pratiche dell'— 217
— — cenni generali sull'— 12, 13, 17
— — da malattie 86
— — degli insetti 28
— — — ereditarietà dell'— 29
— — durata della — 218
— — e circolazione nei vegetali 83
— — e floricultura 218
— — e immunità naturale 217
— — e rizoctonie 85
— — e superinfezione 7, 10, 11, 85, 86
— — fattori dell'— 102
— — natura istogena dell'— 102
— — nei vegetali, cenni sulla 83, 88
— — — sua estensione 83
— — — trasmissione per seme 219
— — obiezioni alla — 83
— — reazioni istogene e umorali nell'— 61
— — specifica nei protozoi 21
— — vaccinazione di embrioni e giovani piantine 218
— — PASSIVA 8, 11, 104, 105
— — (vedi anche: SIEROTERAPIA).
— — — cenni sulla — 45, 47
— — — contro il *B. tumefaciens* 105, 106
— — — discussione sulla — 111
— — SPECIFICA, protozoi e — 21
— ASPECIFICA 7, 10
— ATTIVA 8, 11
— — e filtrati amicrobici 11
— CELLULARE 8, 14

Immunità congenita . . . 7, 10, 13, 17, 35, 45
— — anticorpi nell'— . . . 25
— — delle piante e reazione pigmentaria . . . 28
— — e batteriolisi extracellulare . . . 25
— — e batteriolisine . . . 25
— — e fagocitosi . . . 25
— — e opsonine . . . 13
— — ereditarietà dell'— . . . 35
— — fattori dell'— . . . 102
— — — umorali dell'— . . . 13
— — interpretazione dell'— . . . 53
— — studi sull'— . . . 55
— di barriera . . . 17, 55
— fisiologica, stabilità dell'— . . . 43, 48
— generale . . . 12, 13
— istogena . . . 8, 14, 15, 29, 30
— locale, nelle piante . . . 85
— — definizione dell'— . . . 85
— naturale e immunità acquisita . . . 217
— — delle piante, sua distribuzione . . . 36
— — e sostanze stimolanti . . . 51
— parziale e fagocitosi . . . 65
— — nei conigli, contro il virus vaccinico . . . 15, 16
— specifica . . . 7, 10
— — ed abrina . . . 12
Immunizzazione (vedi anche: Vaccinazione).
— contro la *Botrytis cinerea* . . . 97, 98, 100
— contro il *B. Carotovorus* . . . 97, 97, 100
— dei vermi . . . 22
— ricerche di — . . . 104
— acquisita, generalizzazione della — . . . 85
— attiva dei vegetali, sua possibilità . . . 85
— passiva degli invertebrati . . . 29
— — di *Galleria mellonella* . . . 29
— preventiva dei semi e delle giovani piantine . . . 218
Immunologia medica . . . 8
— vegetale . . . 8
— — ed animale . . . 35
Immunsucchi dei tubercoli radicali . . . 175
Impatiens sultani e anafilassi . . . 112
Inattivazione degli anticorpi e deviazione del complemento . . . 14
Incroci, prodotti ottenuti dagli . . . 216
Indivia, fattori emoagglutinante ed antiemolitico dell'— . . . 137
— sostanze ad azione antiemolitica nell'— . . . 136
Infezioni fungine (vedi: Funghi parassiti).
Infusori, e microrganismi . . . 19
— loro adattamento, agli immunsieri specifici . . . 20
— memoria negli . . . 20
Inoculazioni nelle piante . . . 201

INOCULAZIONE NELLE PIANTE di germi, con pipetta Pasteur . . . 202
— — col metodo *del tassello* . . . 201, 202
— — con siringa . . . 201
INSENSIBILITÀ . . . 19
— CELLULARE verso gli agenti tossici . . . 15
INSETTI, azione dell'acido malico sulla resistenza delle piante agli — . 48
— difesa degli —, mediante la fagocitosi . . . 71
— e immunità . . . 25
— — acquisita . . . 28
— — — ereditarietà dell'— . . . 29
— neoformazioni vegetali da punture di — . . . 57
— vaccinazione orale negli — . . . 57
INTOSSICAZIONI e recettività . . . 10
INVERTEBRATI, fagocitosi negli — . . . 22
— immunità negli — . . . 9, 19, 21
— immunizzazione passiva degli — . . . 29
— produzione di antifermenti negli — . . . 24
IPERRECETTIVITÀ . . . 17, 18, 19
— PASSIVA . . . 18
IPERSENSIBILITÀ . . . 17, 18, 19, 29
— di *Galleria mellonella* verso l'anatossina difterica . . . 29
— ed immunità . . . 72
— e *Puccinia graminis tritici* . . . 72
— ruggini del frumento ed — . . . 71, 72
IRESINE HERBSTII e anafilassi . . . 112

K

KUPFER, CELLULE DI — (vedi: Cellule di Kupfer).

L

LATHYRUS, anticorpi e — . . . 175, 176
— caratteristiche umorali del — . . . 176, 177
— *ODORATUS*, enzimi proteolitici in — . . . 178
— — e agglutinazione . . . 182
LAUROCERASO assorbimento pseudosoluzioni colloidali nel — . . 123, 124
— — di sieri immuni nel — . . . 123, 125
— — di siero normale di cavallo . . . 123, 125
— — di sostanze coloranti . . . 123
— batterioagglutinine del — . . . 154, 171
— emoagglutinazione da foglie di — . . . 137
— fattore antiemolitico nel — . . . 137
— pseudoagglutinina del — . . . 155
— pseudoantiemolisine del succo di — . . . 188
— pseudoprecipitine del — . . . 158
LEGUMINOSE (vedi anche: TUBERCOLI RADICALI DELLE LEGUMINOSE).
— tubercolarizzazione delle — . . . 180
— — *Robinia pseudacacia* e — . . . 182

LEGUMINOSE, tubercolizzazione delle — germi tubercoligeni e — 180, 181
— tubercoli delle — e batteriofago 110
LEPIDOTTERI, larve di — e inoculazione di microrganismi patogeni 15
LEPTOSPHAERIA HERPOTRICHOIDES vaccinazione di piante varie contro la — 89, 92
LEUCOCITI, azione dei — 15, 17, 26, 27
— e batteriolisi 15
— e cellule giganti polinucleate 26
— e fagocitosi 16, 22
— e formazione di cellule giganti 24
LEUCOSINA e anafilassi nei vegetali 113
LILIUM CANDIDUM e anafilassi 112
LIMONE, pseudoprecipitine del succo di — 158
— sostanze ad azione antiemolitica nel — 136
— — batterioagglutinanti nel frutto di — 154
LINFA VEGETALE, considerazioni sulla — 117
— circolazione della — 117
— composizione della — e peli radicali 118
— corrente della — e acidi organici 118
— — e albumina 118
— — e asparagina 118
— — e zuccheri 118
— movimento della — e cellule pulsanti 122
— velocità della — 120
— ASCENDENTE cenni sulla — 118, 119
— DISCENDENTE cenni sulla — 118, 119
— DEL LEGNO azione della — del gelso 137, 141
— — del gelso e pseudoemolisine 188
— — circolazione della — cenni sulla — 122, 130
— — — esperienze sulla — 122, 123
— — — — e anticorpi 122, 123
— — — — e colori d'anilina 123
— — — e sostanze estranee 122, 123
— — — tecnica delle esperienze 123, 124
— — raccolta della — 194
— — — dispositivi per la — 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201
— — — tecnica della — 194 a 200
— — sostanze organiche nella — 118
— DEL LIBRO, cenni sulla — 122, 123, 130
— — circolazione della — 122, 123, 130
— — — esperienze sulla — 130
— — — tecnica dell'esperienza sulla — 130
— — ed eosina 130
— — e sieri immuni 130, 131
— — e sostanze coloranti 130, 131
— ELABORATA 117
— — raccolta della — 194
— — passaggio nella — di sostanze inoculate 202
— — percorso della — 118

LINFA GREGGIA 117, 118
— — e radici 118
— — movimento della — 120
LINO resistente alla *Melanospora lini* Tul. 37
— varietà di — resistenti al *Fusarium lini* 33
— — di — suscettibili al *Fusarium lini* 33
LIQUIDI DELLE PIANTE e fattori umorali dell'immunità 191
— ORGANICI e schizomiceti patogeni 10
LISINE 52, 183
— e *Opuntia* 183
LOROGLOSSUM HIRCINUM sostanze fungicide in 67, 68
LUCE, azione della — sulle piante e sui microrganismi 42
LUPINO, vaccinazione del — contro il *B. putrefaciens* 89, 90
LUPINUS ALBUS ed agglutinazione 182
— — ed enzimi proteolitici 178
LYCOPERSICUM ESCULENTUM e batterio-agglutinine 171

M

MACCHIE delle foglie e infezioni fungine 59
— — e reazioni difensive 59
MALATTIE CONCOMITANTI e recettività 10
— DELLE PIANTE e ambiente 41
— — e funghi parassiti 34
— — loro diffusione e temperatura 41, 44
— — — e umidità 41
— — loro generalizzazione 84
— e simbiosi 50, 60
— INFETTIVE dei protozoi 20
— — DELLE PIANTE, lotta contro le — 213
— — — irrobustimento nella — 313
— — — genetisti e — 213, 214
MANGINIA AMPELINA, resistenza della vite americana alla — 41
— — suscettibilità delle varietà europee alla — 41
MARCIUME del cavolo e batteriofago 110
— del pisello e *Ascochyta pisi* 46
— del tabacco e *Thielavia basicola* 46
— vaccinazione dei vegetali contro il — 90
MASSA PROTOPLASMATICA e processi litici 71
MELANOSPORA LINI TUL. specializzazione della — 37
MEMORIA negli infusorii 20
MENDELISMO e genetica 215, 216
— leggi dell'ibridazione nel — 215
METAZOI e funzione fagocitaria 16
METODO *del tassello* e inoculazioni nelle piante 201, 202
— PEROSINO per combattere la filossera 204
— ZONALE di Ascoli e precipitine 206
MICELIO degenerazione del — significato della — 63, 69
— — e fagocitosi 63, 64, 65, 71

Micorize della dulcamara, vaccinazione della patata contro — . . . 89
— orchidee e — . . . 61
Micosi parassitarie (vedi: Parassiti – Parassitismo).
— — alterazioni fisiologiche da — . . . 55
Microrganismi, azione della luce sui — . . . 42
— — dell'umidità sui — . . . 42
— digestione dei — . . . 26
— e fagociti . . . 26
— e infusori . . . 19
— patogeni, inoculazione di — in larve di lepidotteri . . . 15
— resistenza dei protozoi ai — . . . 20
Micrococcus galleriae . . . 25
Midollo osseo e fagocitosi . . . 16
Mimosa e anafilassi . . . 112
Mitridatismo . . . 20, 2~~28~~ 30
Monilia fructigena . . . 53
Mucor stolonifer . . . 53
Muffe, azione delle — sui succhi vegetali . . . 67, 192
— endofite, orchidee e — . . . 61, 85

N

Neoformazioni reattive delle piante (vedi anche: Tumori) . . . 55
— — — da funghi parassiti . . . 57
— — — da Exoaschi . . . 57
— — — da punture di insetti . . . 57
— — — e cecidi . . . 57
Neottia nidus-avis, cellule digerenti nella — . . . 63
Nicotiana e formazione di precipitine . . . 183
Nucleina, aumento dell'immunità da — . . . 10
Nucleo, alterazioni del — e fagociti funzionanti . . . 28

O

Oidio, avene resistenti all' — . . . 41
— cereali resistenti all' — . . . 47
— maggiore suscettibilità verso l'— delle giovani piante . . . 44
— rose resistenti all'— . . . 33, 41
Oidium Tuckerii, parassitismo da — . . . 54
Olivo, tubercolosi dell'— . . . 1
Olii essenziali, azione degli — sulla *Botrytis cinerea* . . . 51
Opsonine, e immunità congenita . . . 13
Opuntia agglutinine e — . . . 168, 169
— azione antitossica di — contro la *Sclerotinia trifolium* . . . 53
— batterioagglutinine e — . . . 169
— e pseudoprecipitine . . . 136, 158
— sostanze ad azione antiemolitica nell'— . . . 136
— sostanze batterioagglutinanti in — . . . 154, 171
— sostanze emoagglutinanti in — . . . 137

ORCHEOMYCES PSYCHODIS, azione fungicida sull'— 67
— vaccinazione delle orchidee contro l'— 89
ORCHIDEE e fagocitosi 177
— e micorize 61
— e muffe endofite 61, 85
— proprietà agglutinanti dei liquidi di — 63
— succo di — ed azione fungicida 65, 67
— sviluppo delle rizoctonie nei semi di — 62, 85
— vaccinazione delle — contro l'*Orcheomyces* 89
ORCHIS MORIO, postumi fagocitari in — 64
ORINA e schizomiceti patogeni 10
ORISOEMA TRIPHYLLUM, reazioni nucleari nella — 70
ORMONI DI ACCRESCIMENTO 58, 59
— DI DISINTEGRAZIONE e cellule vegetali 58
— — e riparazione delle ferite nei vegetali 58
— VEGETALI, studi recenti sugli — 59
— — cenni sugli — 58, 59, 220
OSPITI, rapporti fra parassiti e — 48
OSSIDASI del succo delle piante 193
— effettiva funzione delle — 220
OXALIS, acidità dei succhi in — 49

P

PARASSITI, azione eccitante dei — sulle piante 56
— barriere cellulari e — 58
— — chimiche 55
— — di cristalli 60
— — di tessuto lignificato 69
— diffusione dei — e calore 42
— ed enzimi 55
— invidualità dei — e specie immuni 216
— inibizione del loro attecchimento 48
— loro penetrazione nelle cellule vegetali 52, 68, 69, 70, 71
— loro sviluppo nelle piante 48, 50
— rapporti fra — ed ospiti 48, 54
— ruggini del frumento e — 216
— rugiade e sviluppo dei — 44
— sistematica dei — e genetica 216
PARASSITISMO, autoamputazioni e — 55
— della *Plasmopara viticola* 54
— e barriere chimiche 55
— e barriere fisiche 55
— specificità del — 217
PATATE (vedi: *SOLANUM TUBEROSUM* – CANCRO DELLE PATATE).
— batterioagglutinine delle — 154, 169, 170
— cancro delle —, vaccinazione contro il — 91, 102
— potere emoagglutinante delle — 135, 136, 151, 183
— pseudoantiemolisina delle — 185

PATATE, pseudoemolisine delle — . . . 150
— reazione dei tessuti delle — al *Penicillium glaucum* . . . 55
— resistenza delle — al *Synchytrium endobioticum* . . . 52
— sostanze ad azione antiemolitica nelle — . . . 135, 136, 183
— succo delle — e deviazione del complemento . . . 188
— vaccinazione delle — . . . 92, 93, 94
— — contro le micorize della dulcamara . . . 89
PELARGONIUM ZONALE (vedi anche: GERANI).
— — sieroterapia dei tumori di — . . . 125, 225
PELI RADICALI e composizione della linfa . . . 118
PENICILLIUM GLAUCUM, azione fungicida sul — . . . 53
— — e resistenza dei pomodori . . . 47
— — reazione dei tessuti di patata al — . . . 55
PERFRIGERAZIONE e recettività . . . 10
PERISPORIACEE, cenni sulle — . . . 54
PERONOSPORA, azione dell'umidità sulla — . . . 41
— *BRASSICAE*, specializzazione della — . . . 40
— diffusione della — e temperatura . . . 41, 11
— e acidità . . . 49
— *PARASITICA*, varietà fisiologiche della — . . . 40
— reazione della vite alla — . . . 55
— viti resistenti alla — . . . 33
— pH dei succhi e resistenza delle piante . . . 50
— — e potere agglutinante . . . 155, 158
PHALLUSIA MAMILLATA, agglutinine da *B. Coli* in — . . . 24
— — immunità da *B. Coli* in — . . . 24
PHASEOLUS MULTIFLORUS (vedi anche: FAGIOLO).
— — pseudoemoagglutinine di — . . . 152
— — — loro comparsa . . . 152
— *VULGARIS* e anticorpi . . . 176
— — comportamento del — riguardo agli anticorpi . . . 176
— — caratteristiche umorali del — . . . 177
— — enzimi proteolitici in — . . . 178
— — e tubercoli . . . 182
— — pseudoagglutinine batteriche in — . . . 154
PHRAGMIDIUM SUBCORTICIUM . . . 33, 42
PHYLLOSIPHON ASTERIFORME, reazioni istogene da — . . . 60, 68
PHYLLOSTICTA, esperienze sul chemiotropismo . . . 51
PIANTE, azione della luce sulle — . . . 42
— azione dell'umidità sulle — . . . 42
PIGMENTI ANTOCIANICI e resistenza . . . 50
— FAGOCITARI, cenni sulla formazione di — — . . . 27, 28
—, fagociti e — . . . 28
— VEGETALI e azioni traumatiche . . . 60
— — cenni sui — . . . 59, 60
PILOCARPINA, aumento dell'immunità da — . . . 10
PISELLO, agglutinazione e succo dei tubercoli del — . . . 182
— ed enzimi proteolitici . . . 178
— vaccinazione del — contro la *Blepharospora cambivora* . 89, 94, 95, 96

PLASMODIOPHORA BRASSICAE, crucifere infettate da — 37
PLASMOPARA VITICOLA, cenni sul parassitismo della — 54
— — resistenza della vite americana alla — 34, 41
— — suscettibilità delle viti europee alla 34, 41
PODOCARPUS, cellule giganti nelle — 69
POICHILOTERMI, animali — e infettabilità 10
POLIFAGIA del batteriofago 109
POLLINOLISINA 188
POMODORI, resistenza dei — al *Pen. Glaucum* 47
PORTATORI 12
— di vibrioni colerigeni 8
— sani 8
— — in patologia vegetale 60
POTATURA e resistenza delle piante 44
POTERE AGGLUTINANTE (vedi: AGGLUTINAZIONE – AGGLUTININE).
POTERE ANTITOSSICO e refrattarietà 53
POTERE BATTERIOAGGLUTINANTE (vedi: BATTERIOAGGLUTININE).
— EMOLITICO (vedi: EMOLISI – EMOLISINE).
— OSMOTICO (vedi anche: PRESSIONE OSMOTICA).
— — alto e immunità 50
— — influenza del — sulla resistenza 50
PRECIPITAZIONE e fitoalbumine 158
PRECIPITINE 13, 183, 206
— (vedi anche: PSEUDOPRECIPITINE).
— formazione di — in *Nicotiana* 183
PREDISPOSIZIONE, ereditarietà della — nei cereali 216
— e resistenza nei cereali 216
PRESSIONE OSMOTICA (vedi anche: POTERE OSMOTICO).
— — e resistenza dei grani 50
PROCESSI LITICI e massa protoplasmatica 71
PROTEZIONE MECCANICA della cute 9
PROTOPLASMA, alterazioni del — e fagociti funzionanti 28
— CELLULARE, reazione del — 55
— e processi litici 71
PROTOZOI, immunità nei — 19
— immunità acquisita specifica nei — 21
— loro adattamento ai veleni 20
— malattie infettive dei — 20
— resistenza dei — ai microrganismi 20
PSEUDOAGGLUTINAZIONE 154
— (vedi: PSEUDOAGGLUTININE).
PSEUDOAGGLUTININE, cenni sulle — 154, 155
— della radice di carota 155
— del lauroceraso 155
— di *Armillaria Mellea* 135
— di *Cotyledon Scheideckeri* 155, 182
— di *Phaseolus multiflorus* 152
— di *Phaseolus vulgaris* 154
— e *B. aterrimus* 169, 170

PSEUDOAGGLUTININE, e *Beta vulgaris* 154
— e pseudoprecipitine 159
— qualità delle — 155
— ricerche sulle — 155
— e succo dei tubercoli radicali 155, 178, 179, 180
PSEUDOAMBOCETTORE EMOLITICO del gelso 134, 141, 142, 143, 144
— — — natura del — 145, 146
— — — attività emolitica del — 147
PSEUDOANTICORPI emoagglutinanti 133 e seguenti
— EMOLITICI 133 e seguenti
— ANTIEMOLITICI 133 e seguenti
— ricerche sui — 136 e seguenti, 225
— rarità dei — 136
— saltuarietà dei — 154, 168, 226
— VEGETALI, categorie di — 133
— — cenni sui — 125, 131, 132, 133, 134, 155, 159
— — conclusioni sui — 136, 137
— — di *Cotyledon Scheideckeri* 159
— — discussione sui — 133
— — e anticorpi 168, 169
— — — congeniti 133
— — e *B. typhi* 159
— — e immunità congenita delle piante 54
— — irregolarità dei — 132
— — nei succhi delle piante 54, 222
— — pseudospecificità dei — 132, 154, 168, 226
PSEUDOANTIEMOLISINE delle patate 185, 188, 189
— del succo di pressione del lauroceraso 188
PSEUDOEMOAGGLUTININE di *Datura stramonium* 152
— di *Phaseolus vulgaris* 152
— di *Ricinus communis* 152
PSEUDOEMOLISINE della *Ammanita phalloides* 150
— del *Cotyledon Scheideckeri* 151
— delle patate 150
— e linfa del legno del gelso 188
PSEUDOPRECIPITINE, azione del calore sulle — 159
— cenni sulle — 158
— dei semi di granturco 40
— del fagiolo 158
— del gelso 158
— del lauroceraso 158
— dell'abrina 158
— della cipolla 158
— della crotina 158
— della ricina 158, 159
— delle avene 158
— delle foglie di sedano 158
— del succo di limone 158
— di *Cotyledon Scheideckeri* 158, 159

PSEUDOPRECIPITINE, e *B. typhi* 158
— e pseudoagglutinine 159
— esperienze sulle — 158
— e *V. cholerae as.* 158
— in *Opuntia* 136, 158
— meccanismo d'azione delle — 158
— natura delle — 158
PSEUDOSOLUZIONI COLLOIDALI, assorbimento di —, nel gelso . 123, 124
— — — nel lauroceraso 123, 124
PSEUDOSPECIFICITÀ dei pseudoanticorpi 132, 154, 168, 226
— delle sostanze batterioagglutinanti vegetali 154
— denominazione 133
PSILOTUM, cellule giganti nelle — 69
— *TRIQUETRUM*, fenomeni di digestione in — 64
PUCCINIA GLUMARUM, grani infestati da — 35
— — e grado di acidità 48
— *GRAMINIS*, *Berberis* resistente alla — 47
— — varietà fisiologiche della — 37
— — *TRITICI* e difesa meccanica del frumento 46
— — — ed ipersensibilità 72
PUCCINIE, resistenza di frumento, avena e fave contro le — . . . 49
PULSAZIONI NELLE PIANTE (vedi: CELLULE PULSANTI).

R

RADICI e linfa greggia 118
REAZIONE CELLULARE delle piante nella vaccinazione 101
— delle piante e secrezioni varie 59
— — a varie malattie 41
— DIFENSIVA macchie delle foglie e — 59
— PIGMENTARIA cenni sulla — 59, 224
— — immunità congenita nelle piante e — 28
— — in *Drosophyllum lusitanicum* 28
— zonale di Ascoli 206
REAZIONI IMMUNITARIE degli animali inferiori 224
— — delle piante 1, 19, 24
— — distinzione delle — 9
— — e agglutinine 206
— — e barriere di subero 27
— — esecuzione delle — 205
— — e succhi vegetali 24
— — e precipitine 206
— — tecnica per le — 206
— ISTOGENE difensive 68
— — ai parassiti vegetali e culture *in vitro* 56, 57
— — all'*Uromyces caladii* 70
— — cellulari 69
— — dei tessuti della patata 55
— — nelle alghe 68

REAZIONI ISTOGENE nelle radici di melone 69
— — nucleari delle cellule 69
— UMORALI delle cellule 70
RECETTIVITÀ e alimentazione insufficiente 10
— e alterazioni del ricambio materiale 10
— e anemia 10
— e avitaminosi 10
— ed estirpazione di organi importanti 10
— ed intossicazioni generali 10
— e fatica 10
— e malattie concomitanti 10
— e perfrigerazione 10
— e sete 10
— e suppurazioni 10
— grado di — 10
— delle piante, scala di Eriksson 34, 35
— diminuzione della — e vaccinazione 94
— nel vaiolo 12
— organi ricchi di zucchero e — ai parassiti 48
— per il B. difterico 11
— suppurazione e — 10
REFRATTARIETÀ 8
— (vedi anche: IMMUNITÀ).
— e potere antitossico 53
REFRATTOMETRIA, umori vegetali e — 84
REINFEZIONE, immunità alla — 98
RESINE, difesa meccanica prodotta dalle — 45
RESISTENZA a germi vari in *Brassica oleofera* 52
— — — in *Sinapis alba* 52
— al marciume del pisello 46
— alla superinfezione 85
— — da *B. radicicola* 86
— — da *B. tumefaciens* 86, 78
— — da rizoctonie 85
— ambiente e — 41
— calore e — 42
— concimi e — 43
— CONGENITA 35
— DELLE PIANTE, cenni sulla — 34. 49
— — differenza nella — 33, 35
— — e *B. Felsineus* 34
— — e immunità 47
— — meccanismo della — 100, 101
— — modo di allevamento e — 44
— — pigmenti antocianici e — 50
— — potatura e — 44
— ed acidità organica 48, 49, 50
— ed ereditarietà, nei cereali 216
— ed età delle piante 43

REISTENZA, e *Synapis alba* 52
— nei pomodori al *Penicilium glaucum* 47
— nel granturco verso l'*Ustilago Zeae* 53
— nelle patate al *Synchrytrium endobioticum* 52
— nell'*Euphorbia cyparissias* all'*Uromyces pisi* 90
— FISIOLOGICA 42
— influenza del potere osmotico sulla — 50
— MECCANICA del frumento e *Puccinia graminis tritici* 46
— terreno e — 43
RICAMBIO MATERIALE, alterazioni del — e recettività 10
RICCIO DI MARE, immunità del — da *B. tumefaciens* 21
— — immunità nell'embrione di — 21
RICINA, pseudoprecipitine della — 158, 159
RICINUS COMMUNIS, pseudoemoagglutinine di — 152
RIZOCTONIE ed orchidee 61
— e immunità acquisita 85
— sviluppo delle — nei semi di orchidea 62, 85
ROBINIA PSEUDACACIA ed enzimi proteolitici 178
— — e tubercoli di leguminose 182
ROSE, recettività delle — rispetto alle ruggini ed al golpe 49
— varietà di —, resistenti alle ruggini 33, 41
— varietà di —, resistenti all'oidio 33, 41
ROSSO NEUTRO, assorbimento di — nelle piante 123, 124
RUGGINI, avene resistenti alle — 47
— — recettive alle — 49
— cereali resistenti alle — 41
— del grano e ipersensibilità 71, 72
— — immunità nelle — 33
— — suscettibilità verso le — 43, 49, 50
— forme biologiche diverse delle — 216
— rose recettive alle — 49
— — resistenti alle — 33, 41
— *Triticum monococcum* resistente a certe — 33, 41
RUGIADE NOTTURNE e sviluppo dei parassiti 44
RUMEX, acidità dei succhi nel — 49

S

SALASSO DI PROVA nei vegetali, tenaglia di Munerati e Mezzadroli nel — 194
SALICE, sostanze batterioagglutinanti del — 154
SCALA DI ERIKSSON (vedi: ERIKSSON, scala di —).
SCHIZOMICETI PATOGENI e liquidi organici 10
— e sudore 10
SCHOCK ANAFILATTICO 17, 18
— vedi anche: ANAFILASSI.
SCLEROSPORA GRAMINICOLA, neoformazioni vegetali da — 57
SCLEROTINIA TRIFOLIUM, generi infettati dalla — 37
— *LIBERTIANA*, azione antitossica dell'*Opuntia* contro — 53

SCLEROTINIA LIBERTIANA, azione antitossica delle carote contro — . 53
— — penetrazione della — 51
SCORPIONE, produzione di antifermenti nello — 24
SCORZONERA, azione della — sul siero di cavallo 159
— sostanze batterioagglutinanti delle foglie di — 154
SECREZIONI varie delle piante da reazione 59
SEDANO, pseudoprecipitine delle foglie di — 158
— sostanze batterioagglutinanti delle foglie di — 154
SELEZIONE, cenni sulla — 215
— e genetica 215, 216
— e parassitismo 217
— e suscettibilità 217
SEMPERVIVUM HAUSMANII, sostanze batterioagglutinanti in — . 52, 154
SENSIBILITÀ dei globuli ai fattori emolitici 148, 150
SENSIBILIZZATRICE (vedi: AMBOCETTORE).
SETE e recettività 10
SICCITÀ, influenza della —, sulle epidemie crittogamiche 44
SIERI, assorbimento di — nel gelso 123, 125
— — nel lauroceraso 123, 125
— azione della scorzonera su — 159
— immuni e circolazione della linfa del libro 130
SIERO ANTITIFICO e circolazione della linfa del libro 131
SIEROTERAPIA (vedi anche: IMMUNITÀ acquisita passiva).
— animale e vegetale 104, 106
— agglutinine e — 105, 125
— dei tumori dei gerani 125
— nelle piante 104, 105, 106, 107, 108
— — durata della — 106
— — possibilità della — 105
SIMBIOSI anatomica 54
— cenni sulla — 60, 61
— e immunità 61
— e malattie 50, 60
— fisiologica 54
— mutualista 8, 56
— parassitaria 8, 60, 61
SINAPIS ALBA, resistenza a germi vari 52
SINTESI delle sostanze organiche nelle piante 117
— — — e carbonio 117
— clorofilliana 117
SIPUNCULUS, vaccinazione del — 22
SOLANUM TUBEROSUM e batterioagglutinine 171
— — (vedi anche: PATATE).
SOSTANZE assorbite pel legno di piante vive 203
— — — metodi usati 203, 204
— — — tecnica 204, 205
SOSTANZE ANTIEMOLITICHE (vedi anche: PSEUDOANTICORPI ANTIEMOLITICI, ANTIEMOLISINE) 125, 133, 136, 137
— cellulari ed intercellulari delle piante, ed immunità 36

SOSTANZE estranee e circolazione della linfa del legno 122, 123
— della cicoria 136
— dell'indivia 137
— del lauroceraso 137
— del limone 136
— dell'*Opuntia* 136
— della patata 135, 136, 183
— dello *Stachis* 137
— dello spinacio 154, 156
SOSTANZE BATTERIOAGGLUTINANTI (vedi: BATTERIOAGGLUTININE).
SOSTANZE COLORANTI, assorbimento di —, per il legno 123
— — — nel lauroceraso 123
— — e circolazione della linfa del libro 130
— FUNGICIDE in *Loroglossum hircinum* 65, 66
— ORGANICHE sintesi delle — e carbonio 117
— STIMOLANTI e immunità naturale nelle piante 51
SPARTIUM JUNCEUM, tubercoli di — 182
— — e *B. radicicola* 182
SPECIALIZZAZIONE, dei parassiti vegetali 33, 36, 37
— dell'*Ustilago nuda* 40
— — *tritici* 40
— — (vedi anche: PARASSITI e piante parassitate).
SPECIFICITÀ del batteriofago vegetale 111
— del parassitismo 217
SPHAEROTECA PANNOSA 42
SPINACIO, azione dello — sul siero di cavallo 159
— — batterioagglutinine dello — 154
— sostanze ad azione antiemolitica nello — 136
SPREMITURA del succo delle piante 191
SPUGNE fagocitosi nelle — 21
STACHIS, azione dello — sul siero di cavallo 159
— sostanze ad azione antiemolitica in — 136
— sostanze batterioagglutinanti delle radici di — 154
— sostanze emoagglutinanti in — 137
STAGIONE, influenza della — sull'emolisi 142
STIMOLINE e attività dei fagociti 16
STRICNINA, germinazione di semi e — 190
STYSANUS STEMONITIS, azione fungicida del succo di — 53
SUBERO, barriere di — e reazione immunitaria 27
— formazione di — e difesa delle piante 56
SUCCHI DELLE PIANTE, acidità dei — 49
— anticorpi e — 14, 122, 123, 125, 132, 168, 190
— azione germicida e fungicida dei — 52, 53
— azione delle muffe sui — 67, 192
— agglutinine dei — 192
— confronti con quelli animali 117
— conservazione dei — 192
— e pseudoanticorpi 54, 222
— movimenti dei — 117

SUCCHI, ossidasi nei — 193
— proprietà umorali dei — 65
— precipitine dei — 192
— raccolta dei — 192, 193
— reazioni immunitarie dei — 24
— spremitura dei — 191
SUDORE e schizomiceti patogeni 10
SUPERINFEZIONE e immunità acquisita 12
— resistenza alla — 85, 86
SUPPURAZIONI e recettività 10
SUSCETTIBILITÀ delle piante alle malattie 34, 35
— delle viti europee a vari funghi 34, 41
— maggiore delle giovani piante verso l'oidio 41
SYNCHYTRIUM ENDOBIOTICUM, patate resistenti al — 52

T

TEMPERATURA, aumento della — nelle foglie parassitate 56
— azione della — sulla *Botrytis* . . . . . . 89, 90, 102.
— — sulle agglutinine 175, 181
— — sui pseudoanticorpi delle emazie . . . . . . 135 a 138, 140, 141
144, 145, 150 a 153
— — sulle pseudoagglutinine 155, 160, 163
— — sulle pseudoprecipitine 159
— e diffusione delle malattie delle piante 41, 44
— e diffusione della peronospora 41, 44
TENAGLIA DI MUNERATI E MEZZADROLI 194
— — — e salasso di prova nei vegetali 194
TERRENO e resistenza delle piante 43
TESSUTI, decomposizione dei — da enzimi 27, 45, 46
— reazioni istogene dei — ed immunità 36
THIELAVIA BASICOLA e marciume del tabacco 46
TIGNOLA DEGLI ALVEARI (vedi: GALLERIA MELLONELLA) 25
TILLETIA LEVIS, specializzazione di — 40
— *TRITICI*, specializzazione di — 40
TOSSICI, assuefazione dei vegetali ai — 190
TOSSINA DIFTERICA e *Galleria Mellonella* 25, 29, 30
— — e immunità attiva 11
TOSSINE del succo delle cipolle 53
— distruzione delle — da parte delle piante 226
TRATTAMENTI ANTICRITTOGAMICI, umidità e temperatura nei — . . 42
TRICHOTHECIUM CANDIDUM e patogenicità per le Begonie 51
TRIFOLIUM PRATENSE e anticorpi 179
— — esperienze sui succhi di — 176, 177
— — tubercoli di — 179
TRITICUM MONOCOCCUM, sua resistenza ad alcune ruggini . . . 33, 41
— — ereditarietà della resistenza all'*Erysiphe* 216
— *DICOCCUM*, ereditarietà della resistenza all'*Erysiphe* 216
TUBERCOLIZZAZIONE delle leguminose 180

TUBERCOLI RADICALI, aspecificità delle agglutinine nei — 181
— — citologia dei — 178
— — comportamento dei — 178
— — del pisello e agglutinazione 182
— — delle leguminose e batteriofago 110
— — e agglutinine 174, 175, 178, 179, 180, 226
— — e *B. radicicola* 178, 179
— — ed enzimi proteolitici 178
— — e germi tubercoligeni 180, 181
— — e immunsucchi 179
— — e produzione d'anticorpi 175, 178
— — e pseudoagglutinine 155, 178, 179, 180
— — e specificità delle agglutinine 180
TUBERCOLOSI dell'olivo 1
TUMORI, esperienze sui — dei gerani 86, 87, 88, 125, 171
— delle barbabietole e batteriofago 110
— dei geranî e agglutinine antitumefaciens 171
— sieroterapia nei — dei geranî 125, 225
TUNICATI, emoagglutinine e batterioagglutinine nei — 24

U

ULTRAVIRUS, batteriofago e — 108, 109, 110
UMIDITÀ e diffusione delle malattie delle piante 41
— e diffusione della peronospora 41
— sua azione sulle piante e sui microrganismi 42
— — sulla *Botrytis* 89, 90, 102
UMORI VEGETALI, alterazione degli — nelle malattie 84
— complemento ed — 21
— — studio refrattometrico degli — 84
UNCINULA NECATOR, resistenza della vite americana all' — . . . 41
— — suscettibilità delle viti europee all' — 41
UROMYCES CALADII, reazioni nucleari all' —. 70
UROMYCES PISI, resistenza di *Euphorbia cyparissias* all' — 90
— vaccinazione contro l' — 90
USTILAGO MAYDIS 53
— — granturchi immuni dalla — 53
— — vaccinazione del mais contro — 89, 96, 97
— *NUDA*, specializzazione della — 40
— *TRITICI*, specializzazione della —. 40
— *ZEAE*, granturchi resistenti alla — 44

V

VACCINABILITÀ 9
VACCINAZIONE (vedi anche: IMMUNIZZAZIONE e SUPERINFEZIONE).
— azione protettiva della — 98
— contro l'*Ustilago maydis* 96
— contro il marciume dei vegetali 90

VACCINAZIONE contro il *Botrytis cinerea* 97, 98
— contro la *B. carotovorus* 97, 98
— contro *Bleph. cambivora* 94, 95
— contro *Uromyces pisi* 90
— contro il cancro delle patate 91, 102
— contro le micorize della dulcamara 89
— contro *B. mesentericus* 89, 94
— contro l'*Helminthosporium sativum* 89, 90, 91
— contro l'*Orcheomyces* 89
— contro *Leptosphaeria herpotrichoides* 89, 92
— contro *Fusarium vasinfectum* 89, 92
— contro *B. putrefaciens* 89, 90
— delle piante, forme di — 89
— delle giovani piantine 218
— degli embrioni 218
— degli insetti 28
— orale dei bachi da seta 29
— diminuzione della recettività 94
— durata del trattamento nella — 103
— durata dell'azione della — 99
— e fagocitosi 17
— effetti della — 98
— generalità 11, 29
— materiale per la — 102
— meccanismo della — 99, 100, 101
— modificazioni susseguenti alla — 90, 92
— possibilità di — delle piante 83, 84
— reazioni cellulari delle piante nella — 101
— specificità della — nelle piante 95, 96, 99
— tecnica della — 102, 103
VACCINI (vedi anche: VACCINAZIONE).
— azione del calore sui — 102, 103
— azione dei — 99
— durata dell'azione dei — 96
— preparazione di — per vegetali 92, 93, 94
— proprietà dei — 99
— somministrazione dei — 103
— specificità dei — 96, 99
VAIOLO, cornea del coniglio e — 12
— recettività nel — 12
VELENI, adattamento dei protozoi ai — 20
— distruzione di — da parte delle piante 226
VELENO DI COBRA e *Galleria Mellonella* 25
VERMI SUPERIORI, fagocitosi nei — 21
— fenomeni immunitari nei — 21
— immunizzazione dei — 22
— MARINI, fagocitosi nei — 22
V. CHOLERAE AS. e formazione di batterioagglutinine nei vegetali 154, 171
— e *Cotyledon Scheideckeri* 181

V. CHOLERAE AS. e pseudoprecipitine 158
VIBRIONI COLERIGENI, portatori di — 8
VICIA FABA 182
— — (vedi anche: FAVE).
VIRUS VACCINICO e immunità parziale nei conigli 15, 16
— — e sostanze immunizzanti 15
VITI americane, resistenze a funghi diversi 34, 41
— europee, loro suscettibilità a parassiti vari 34, 41
— varietà di — resistenti alla peronospora 42
VOLVARIA GLOIOCEPHALA, emolisine di — 151

Z

ZUCCHERI dei succhi vegetali, azione degli — 51
— e corrente della linfa 118
ZUCCHERO, organi ricchi di — e recettività ai parassiti 48
ZAMIOCULCAS ZAMIIFOLIA, reazioni istogene nella — 60, 68

INDICE DEGLI AUTORI CITATI

Alessandrini 109
Allen 51, 71,
Altana 12
Armand e Dangeard 63
Arnaudi 1, 54, 86, 89, 92 a 96, 98,
102, 105 - 106, 125, 133, 137, 171
— e Carbone 154, 155
Arrhenius 50
Ascoli 206
Atkins....................... 118
Averna-Saccà 43, 48

Bachmann, Walker e Lindegren........................ 53
Beauverie 90, 90, 98, 102, 103
Belfanti 17, 24, 55
Benigni .. 2, 53, 89, 96, 97, 99, 228
Bernard 60, 61, 62, 63, 64, 65, 67, 69
71, 85, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 177
— Md.me 61
Beyerinck e Sachs 57, 58, 59
Biffen 42
Blackmann...12, 45, 72, 83, 105, 106
Blumer 41
Borzi 59
Bory 149
Bose ... 120, 122, 123, 200, 201, 223
Brown....................... 51
Brüllowa 55
Buscaglione 59
Büsgen 59
Butler 48
Bygden 50

Calestani.................... 59
Canestrini.................. 215
Cantacuzène 15, 19, 21, 22, 29
Cappelletti..... 2, 155, 168, 174, 175
182, 192, 193, 206, 226
Carbone D. ... 34, 54, 56, 59, 64, 89
91, 112, 135, 169, 170, 188
— e Arnaudi 154, 155
—, Quarella e Venturelli..... 60
Carbone Tito................ 1
Cartwright 52
Casagrandi 15
Castellani 182
Cavara 59
Centanni............. 17, 58, 153
Cesaris-Demel e Longo 112
Chorine 29
Christensen-Stakman 40
Ciamician 189, 190
Ciuffo 153
Cobb 45
Comes 48, 49, 50
Comini 68
Conant 46
Coons e Kotila 110, 111
Couturier e Lumière...... 112, 113
Craigie e Melander 47
Cuboni 57, 58, 59

Dangeard 69, 179
— e Armand 63
Darwin 214
Degli Atti 48
Demkerly 70
De Vries 215
D'Herelle 108, 109, 110
Doussain 171
Dixton 118

Draghetti ... 50
Dufrenoy ... 70, 71
Dumas ... 109

Eisler e Portheim ... 152, 154
Eriksson ... 34, 35, 37, 47

Ferraris ... 12, 34
Ferri ... 150
Ferron ... 134
Fischer ... 55
Fitting ... 118
Foëx ... 44
Fortuna ... 29
França ... 28, 171, 174, 188
Franchini ... 60
Fulton ... 51

Gallaud ... 63
Galeotti ... 7
Gäumann ... 40
Gerretsen e Sack ... 110
Ghersi ... 124
Gilchrist ... 46
Gioelli ... 84
Gipson ... 51
Gonzales Criado ... 112
Griffiths ... 44
Gryns e Söhngen ... 110
Gutemberg ... 55

Haberlandt ... 58
Hagler ... 50
Hankin ... 108
Henning ... 47
Hiltner e Störmer ... 86
Hurd-Karrer ... 50
Hursh ... 46, 47, 49, 50, 89, 92
99, 103, 190

Jacoby ... 12
Janse ... 63
Jordan ... 215
Jordi ... 43
Jost ... 118

Kay e Pool ... 44
Karsten ... 118
Kirchner ... 48
Klebah ... 37
Köhler ... 40
Kořinek .. 2, 154, 171, 174, 181, 191
Kostoff ... 183
Kotila e Coons ... 110, 111
Kritschewsky ... 133, 151, 154
155, 158, 159, 181

Lamarck ... 214
Laubert ... 42
Laurent ... 50
Lindegren, Walker e Bachmann 35
Longo e Cesaris-Deniel ... 112
Lo Priore ... 48, 59
Lumière e Couturier ... 112, 113
Lustig ... 10

Mac Dougal ... 50
Magnus ... 63, 69
Magrou ... 61, 64, 67, 71, 85, 89
98, 99, 101, 102, 177
Maggiora ... 134
Malpighi ... 57
Manzoni ... 55
Marcusson Begun ... 136, 152
Marquer ... 56
Marryat e Salmon ... 51
Marshall Ward ... 47, 72
Massee ... 50, 51
Matsukaki ... 17
Melander e Craigie ... 47
Mendel ... 215, 216
Metalnikov ... 9, 15, 19, 20, 21, 25
29, 72
— e Rapkine ... 21
Mezzadroli e Munerati ... 194
Miyosi ... 50
Molliard ... 69
Montemartini ... 41, 43, 44, 55, 56
59, 90, 118, 120
Moritz ... 183
Mouton ... 21
Müller . 104, 119, 120, 123, 203, 204
Munerati e Mezzadroli ... 194

Nilson ... 215
Nukada ... 17
Nobécourt . 45, 47, 48, 51, 53, 61, 67
88, 89, 97, 98, 99, 100
102, 103, 112, 113, 226
Novoa Santos ... 112

Paillot 15, 21, 22, 25, 29, 71
Pantanelli 43, 44, 49, 50, 55
Paris 50
Pavarino 56
Peglion 57
Perosino 204
Petri 51
Pettinari 151
Picado 154, 169, 183, 188
Pool e Kay 44
Portheim e Eisler 152, 154

Quarella, Venturelli e Carbone 60

Rapkine e Metalnikov 21
Ravenna 189
Ray 89, 90, 99, 102, 103
Redaelli 25, 26
Reimann 203
Reinhardt 50
Ricca 59
Riker 171
Rivera 43, 44, 50
Rodenhiser 40
Rondoni 7
Rumbold 123
Rusconi 134, 152, 158, 205

Sachs e Reyerinck 57, 58, 59
Sack e Gerretsen 110
Salmon 52
— e Marryat 51
Sappin-Trouffy 69
Sardiña 2, 171, 192
Sartori 190
Scarpellini 15, 16
Scevirieff 203, 204
Schaffnit e Volk 43
Schander 43
Schenk 118
Schiff-Giorgini 1, 188
Schmidt 51
Scurti e Sicca 48
Senn 50
Shibata 64, 69
Sibilia 109
Sicca e Scurti 48
Sieden e Trieschmann 91, 98
102, 103
Siemens, Werner von 108
Smith 86, 171
Söhngen e Gryns 110
Sorauer 84
Spinks 43
Stahl 50
Stakmann 37
— e Christensen 40
Störmer e Hiltner 86
Strasburger 118

Tischler 50, 90
Tobler 60, 68
Todaro 215
Trieschmann e Sieden 91, 98
103, 103

Vaccari 122
Van der Wolk 55, 60
Vavilov 37, 41, 42, 43, 45
47, 49, 50, 51, 84
Venturelli 181
—, Carbone e Quarella 60
Viganò 155, 192, 206
Vigliano 1, 54, 136, 154
158, 159, 206
Vilenko 159
Volk e Schaffnit 43
Vuillemin 84

Wagner 52, 154, 181, 188, 191
Walker, Lindegren e Bachmann 53
Wallace 214
Weismann 215
Wille 49

Zimmerman 72
Zinser 174
Zironi 17, 18, 19, 72
Zoja 2, 89, 90, 91, 99, 100
101, 102, 103, 104, 228

INDICE DELLE FIGURE

Pag.

Fig. 1 – Fagocitosi del B. del carbonchio 15
» 2 – Fagocitosi in cellula sarcomatosa coltivata *in vitro* 16
» 3 – Digestione in un protozoo 20
» 4 – Reazioni immunitarie nel riccio di mare 22
» 5 – Fagocitosi in *Ascaris megalocephala* 23
» 6 – Urne di *Sipunculus nudus* 24
» 7 – Fagocitosi elettiva in *Galleria mellonella* 25
» 8 – Cellula gigante 26
» 9 – Ascessi pigmentarî in *Galleria mellonella* 27
» 10 – *Drosophyllum lusitanicum* 28
» 11 – *Rhizoctonia repens* in cultura pura 61
» 12 – Cellule di orchidea con fagocitosi 62
» 13 – Alterazioni di micelio parassita in cellule vegetali 63
» 14 – Cellule di *Phalaenopsis* con micelio digerito 64
» 15 – Epidermide di *Orchis morio* con postumi fagocitari 65
» 16 – Fasi di penetrazione e di arresto di micelio in radici di patata . 66
» 17 – Azione fungicida dei bulbi di *Loroglossum* 68
» 18 – Reazioni nucleari ai parassiti 69
» 19 – Reazioni cellulari ai vermi 70
» 20 – Austori di uredinee 71
» 21 – Resistenza alla superinfezione nel geranio 87
» 22 – Fasi di vaccinazione del frumento 91
» 23 – Nuclei ipertrofici in seguito alla vaccinazione 100
» 24 – Sezioni di piante di frumento vaccinato e non 101
» 25 – Sieroterapia del tumore nel geranio 107
» 26 – Diagramma sul deflusso della linfa ascendente e discendente . 119
» 27 – Curva della intensità della pulsazione cellulare nei vari tessuti . . 120
» 28 – Azione della temperatura sulla pulsazione nelle piante 121
» 29 – Apparecchio per la raccolta della linfa del libro 129
» 30 – *Drosophyllum lusitanicum* nutrito con emazie 189
» 31 – Olio di vaselina nella conservazione dei succhi delle piante . . . 193

Pag.
Fig. 32 – Tenaglia di Munerati e Mezzadroli 194
» 33 – 1° Dispositivo per l'esame della linfa del legno 195
» 34 – 2° Dispositivo per la linfa del legno 196
» 35 – 3° Dispositivo per la linfa del legno 197
» 36 – 5° Dispositivo per la linfa del legno 198
» 37 – 6° Dispositivo per la linfa del legno 199
» 38 – Pallone tubulato per l'aspirazione 200
» 39 – Inoculazione della patata con il metodo del tassello 202
» 40 – Inoculazione della patata con la pipetta 203
» 41 – Inoculazione nella linfa del libro 204
» 42 – Inoculazione nella linfa del legno 205

TAVOLE A COLORI FUORI TESTO.

I. – Formazione del tubercolo in *Galleria mellonella* 25
II. – Esempio della scala comparativa di Eriksson 33
III. – Fagociti fissi; reazione pigmentaria; assorbimento di coloranti . . . 124

IMPERIAL MYCOLOGICAL
15 NOV. 1937
INSTITUTE